



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"CAROL DAVILA" din București



2025

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"CAROL DAVILA" din București
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ

***IMPORTANȚA INVAZIEI LIMFOGANGLIONARE ȘI
PERINEURALE ÎN EVOLUȚIA CANCERULUI DE COLON***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. TRAEAN BURCOȘ

Student-doctorand:

POPESCU EMIL MARIAN

2025

Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București
Strada Dionisie Lupu nr. 37 București, Sector 2, 020021 România, Cod fiscal: 4192910
Cont: RO57TREZ70220F330500XXXX, Banca: TREZORERIE sect. 2
+40.21 318.0719; +40.21 318.0721; +40.21 318.0722
www.umfcd.ro

Cuprins

Introducere.....	
I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....	1
1. Factorii de risc în neoplasmul colorectal.....	1
2. Factorii de prognostic în neoplasmul colorectal.....	10
2.1. Factori clinici.....	10
2.2. Factori de prognostic aflați în stânsă legătură cu tumora primară la momentul diagnosticului.....	11
2.3. Factori de prognostic histopatologici ai tumorii primare.....	18
II. CONTRIBUȚII PERSONALE.....	23
3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale.....	23
4. Metodologia generală a cercetării.....	26
5. Studiul I - Invazia limfovasculară (LVI).....	29
5.1. Introducere.....	29
5.2. Material și metodă.....	29
5.3. Rezultate.....	30
5.4. Discuții.....	61
6. Studiul II – Invazia perineurală (PNI).....	64
6.1. Introducere.....	64
6.2. Material și metodă.....	64
6.3. Rezultate.....	65
6.4. Discuții.....	101
7. Concluzii și contribuții personale.....	104
7.1 Concluzii.....	104
7.2 Contribuții personale.....	106
Bibliografie.....	107

Lista lucrărilor publicate în reviste de specialitate indexate ISI:

1. Early perianastomotic tumoral recurrence in a patient with sigmoid colon adenocarcinoma with perineural and lymphovascular invasion

Emil-Marian Popescu; Dan-Alexandru Popescu; Serban Iancu Papacoea; Daniel Alin Cristian; Traean Burcoş; Diana-Andreea Popescu, Chirurgia (Bucur). 2025;120(2):in press, Revistă indexată ISI cu factor de impact 0,8, <http://dx.doi.org/10.21614/chirurgia.3112> (articol de cercetare tip case report realizat din capitolele 5 şi 6),

2. Lymphovascular invasion in the evolution of colon cancer: a single center experience and analysis of the specialized literature

Emil-Marian Popescu; Dan-Alexandru Popescu; Daniel Alin Cristian; Traean Burcoş; Diana-Andreea Popescu, Chirurgia (Bucur). 2025 March, Online Ahead of Print, Revistă indexată ISI cu factor de impact 0,8, <http://dx.doi.org/10.21614/chirurgia.3113> (articol original de cercetare realizat din capitolul 5),

3. Perineural invasion in the evolution of colon cancer: a single center experience and analysis of the specialized literature

Emil-Marian Popescu; Dan-Alexandru Popescu; Daniel Alin Cristian; Traean Burcoş; Diana-Andreea Popescu, Chirurgia (Bucur). 2025 March, Online Ahead of Print, Revistă indexată ISI cu factor de impact 0,8, <http://dx.doi.org/10.21614/chirurgia.3114> (articol original de cercetare realizat din capitolul 6).

Introducere

La începutul acestui studiu, în anul 2018, incidența tuturor neoplaziilor în Europa se situa în jurul valorii de 23%, iar numărul deceselor depășea cu puțin 20%. Cancerul reprezenta a doua cauză de morbiditate și mortalitate la nivel European. În prezent, conform datelor furnizate de Globocan în anul 2022, neoplasmul colorectal se situează pe locul doi în Europa, cu o incidență de 12% în anul 2022, primul loc fiind ocupat de neoplasmul de sân cu 12,5%, iar pe locul trei și patru situându-se neoplasmul bronhopulmonar cu 10,8%, respectiv neoplasmul de prostată cu 10,6% (Ferlay J, 2024). Informațiile privind mortalitatea prin cancer la nivel european furnizate de aceeași agenție situează neoplasmul colo-rectal pe același loc doi cu 12,5%, primul loc fiind ocupat de cancerul bronhopulmonar cu 18,9%, iar locul trei fiind ocupat de cancerul de sân cu 7,3% (Ferlay J, 2024).

La nivel național, cancerul colo-rectal reprezintă cea mai frecventă neoplazie, urmată de cancerul de sân și cancerul pulmonar, cu o incidență ușor staționară în ultimii ani, aceasta ajungând la o valoare de 13541 cazuri noi (Ferlay J, 2024). Din totalul tuturor neoplaziilor decelate la nivelul țării noastre, incidența neoplasmului colo-rectal reprezintă un procent raportat de 12,9% în anul 2022, comparativ cu 13,3% la nivelul anului 2018 (Ferlay J, 2024). Încă din anul 2020, cu o incidență de 13,1%, cancerul colo-rectal ocupa prima poziție, aspect ce a evidențiat o creștere semnificativă a numărului de cazuri raportată la anul 2018, cu 1,3% peste media Europeană. Rata de deces prin neoplasm colo-rectal a fost estimată la 13,1% în 2022, în ușoară creștere cu 0,4 procente în comparație cu valoarea estimată pentru anul 2018.

Frecvent diagnosticat în stadii avansate, cancerul colo-rectal reprezintă o boală invalidantă ce afectează uneori ireversibil calitatea vieții pacientului. Datorită costurilor semnificative generate de diagnosticul tardiv al bolii, costuri grefate de o morbiditate și o mortalitate crescută, neoplasmul colo-rectal a beneficiat de-a lungul timpului de numeroase progrese tehnologice, începând de la mijloacele de screening, foarte utile pentru depistarea în fază precoce, incipientă a bolii, până la mijloacele de terapie neoadjuvantă și adjuvantă, în cazul în care stadializarea inițială impune un astfel de tratament preoperator și/sau postoperator (Bhimani N, 2022). Tratamentul chirurgical a beneficiat de aportul chirurgiei minim-invazive, care în prezent se bucură de o ascensiune fulminantă, atât prin abordul laparoscopic, cât și prin abord robotic sau combinat.

Posibilitatea efectuării unei intervenții chirurgicale complexe cu intenție de radicalitate oncologică în manieră minim invazivă, a permis o durată de spitalizare mai mică, o rată a complicațiilor postoperatorii imediate sau tardive mai scăzută în raport cu chirurgia clasică, deschisă, o reintegrare socială mai rapidă, fără a avea efecte secundare asupra evoluției ulterioare a bolii (John C. Taylor, 2024). Numeroase studii efectuate și publicate în literatura de specialitate au arătat că rata de recidivă și mortalitatea prin cancer colo-rectal nu sunt afectate de tipul de abord chirurgical ales și practicat. În prezent, ghidurile recomandă de primă intenție abordul minim-invaziv în chirurgia colo-rectală, atunci când situația permite acest lucru, acesta dovedindu-și superioritatea față de chirurgia deschisă, aspect discutat anterior (Zeng WG, 2014).

Necesitatea prevenției primare în patologia neoplazică este evidentă și numeroase studii publicate accentuează importanța identificării factorilor de risc, stabilind astfel populația țintă, predispusă să dezvolte o anumită neoplazie de-a lungul vieții, astfel mijloacele de screening își demonstrează eficiența și își justifică costurile, însă acestea nu sunt disponibile la scară largă în sistemele de sănătate subdezvoltate și subfinanțate. Acest aspect îngreunează diagnosticarea precoce și instituirea unui tratament prompt și adecvat, raportat la stadializarea preterapeutică necesară pacientului oncologic. Accesul dificil la mijloacele de screening, combinat cu educația medicală precară a populației generale, reprezintă cei mai importanți factori care contribuie împreună la o mortalitate mult peste media europeană prin cancer colorectal. Interesul manifestat de cercetători la scară largă asupra factorilor de risc, asupra metodelor de diagnostic și a posibilităților de tratament, s-a concretizat prin instituirea unor protocoale standardizate de diagnostic și management terapeutic.

Motivația alegerii temei, constă în necesitatea implementării unui program național de screening pentru depistarea precoce a proceselor neoplazice cu interesare colorectală, precum și necesitatea realizării unei baze de date la nivel național care să conțină date despre toți pacienții diagnosticați cu neoplasm colorectal. Baza de date trebuie să conțină dosarul complet al pacientului care să cuprindă date legate de antecedentele heredocolaterale, antecedentele personale patologice, investigațiile efectuate, tratamentul urmat, precum și evoluția în timp a acestuia.

I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

1. Factorii de risc în neoplasmul colorectal

În ciuda progreselor tehnologice și logistice înregistrate în ultimele decenii, atât la nivel chirurgical, prin introducerea tehnicilor minim-invazive laparoscopice și robotice și a suturilor mecanice, cât și la nivel oncologic sau radioterapeutic, supraviețuirea medie la 5 ani în neoplasmul colorectal depășește cu puțin 60% în țările considerate dezvoltate, cu un program național de screening bine implementat și accesibil la scară largă pentru populația generală (Brouwer NPM, 2018). În restul țărilor, supraviețuirea medie este considerabil mai scăzută, aceasta situându-se în jurul valorii de 40% (Rawla P, 2019). Probabilitatea unui individ de a dezvolta cancer colorectal de-a lungul vieții diferă în funcție de sexul acestuia. Un raport de 1 la 17 este valabil pentru sexul masculin, mai predispus în a dezvolta boala, respectiv un raport de 1 la 18 pentru sexul feminin (Amersi F, 2005).

Studiile din literatura de specialitate au dovedit faptul că o bună cunoaștere a factorilor de risc incriminați în apariția cancerului colorectal este esențială în identificarea populației la risc, astfel utilitatea mijloacelor de screening și a măsurilor de prevenție se referă în primul rând la populația vizată și mai apoi la populația generală (Pop, 2009).

Principalii factori de risc incriminați în apariția cancerului colorectal vor fi detaliați mai jos:

1.1. Vârsta pacientului

Vârsta pacientului, în strânsă corelație cu procesul fiziologic de îmbătrânire, reprezintă indubitabil un factor ce poate duce la creșterea riscului de apariție al bolilor neoplazice. Neoplasmele colorectale nu fac excepție de la această regulă, peste 85%-90% din cazurile nou diagnosticate se regăsesc la pacienți cu vârsta peste 55 ani, fără a putea exclude posibilitatea apariției bolii la o vârstă mult mai tânără (Roshandel G, 2024). În literatura de specialitate vârsta medie la momentul diagnosticului bolii se situează în jurul vârstei de 60 ani, aspect valabil pentru ambele sexe, cu o vârstă mediană de 70 ani la sexul masculin și o vârstă mediană de 72 ani la sexul feminin (Glover M, 2019). Aspectul îngrijorător cu privire la incidența în continuă creștere a cancerului colorectal este dat de vârsta tot mai tânără la momentul diagnosticării pacientului. Se

apreciază că un procent de aproape 15% din totalul pacienților cu cancer colorectal este reprezentat de pacienți cu vârsta mai mică de 50 ani (Chen FW, 2017). Acest lucru explică necesitatea implementării și efectuării mijloacelor de screening mult mai devreme raportat la recomandările inițiale, începând cu vârsta de 45 ani (40 ani la persoanele aflate la risc) periodic până la vârsta de 75 ani sau până când speranța de viață este mai mică de 10 ani, cu o frecvență variabilă în funcție de particularitățile fiecărui individ în parte (Anon., fără an). Persoanele aflate în intervalul 76-85 ani pot beneficia de screening, aspect dictat de rezultatele anterioare și preferințele personale ale acestora. Ghidurile nu recomandă efectuarea screeningului la persoanele peste 85 ani.

1.2. Sexul

Comparativ cu femeile, studiile de specialitate au observat că bărbații au un risc ușor mai crescut de a dezvolta un neoplasm colorectal, fără a putea fi precizată cauza și mecanismele care stau la baza acestei constatări (Roshandel G, 2024). Se consideră factor protector activitatea hormonală estrogenică la femeile aflate în perioada fertilă, dar substituția hormonală administrată pe perioade lungi de timp, nu poate fi luată în considerare ca mijloc de protecție, datorită efectelor adverse ce pot surveni la nivelul altor aparate și sisteme (González-Flores, 2025).

Estrogenul prezintă un rol antitumoral la nivelul mucoasei colorectale prin legarea de receptorul său beta. Această legătură produce activarea unor mecanisme apoptotice cu rol oncosupresor, pierderea acestei conexiuni în dezvoltarea cancerului colorectal poate sugera un rol important al estrogenului în progresia bolii (Caiazza F, 2015).

1.3. Rasa subiecților

Numeroase studii au semnalat diferențe semnificativ statistice privind ratele de supraviețuire ale diferitelor rase populaționale. Rasa afro-americană prezintă o incidență mai mare și o supraviețuire mai scăzută comparativ cu rasa caucaziană (Amersi F, 2005). Datele privind supraviețuirea la 5 ani, comparativ între cele două rase, diferă în funcție de stadiul bolii la momentul diagnosticului. Variația procentuală este cuprinsă între 7% în primele două stadii (I și II) și respectiv 10% între ultimele 2 (stadiul III și stadiul IV) (Amersi F, 2005).

Diferențele sesizate în studii pot fi puse pe seama problemelor socio-economice ale rasei afro-americane, pe baza sistemelor de sănătate subfinanțate, pe baza lipsei programelor de screening și pe adresabilitatea scăzută a pacienților la serviciile de sănătate.

1.4. Obezitatea și sedentarismul

Pacienții cu un IMC mai mare de 30, comparativ cu restul populației, prezintă un risc crescut pentru apariția cancerului colorectal (Mandic M, 2024). Într-o situație similară se regăsesc și cei cu activitate fizică scăzută. Hiperinsulinismul datorat creșterii rezistenței la insulină reprezintă ipoteza prin care studiile încearcă să stabilească relația de cauzalitate dintre creșterea riscului de apariție al cancerului colonic și diabetul zaharat de tip II (Chen, 2018). Activitatea fizică moderat-crescută, s-a dovedit în toate studiile, un factor protector în apariția bolii, în timp ce aportul crescut de calorii și/sau sedentarismul, factori negativi (Amirsasan, 2022).

1.5. Alimentația și consumul de alcool

Poate unul dintre cei mai importanți factori de mediu ce poate duce în timp la dezvoltarea cancerului colorectal este alimentația deficitară atât cantitativ, cât și calitativ (Vallis J, 2022). Este cunoscut faptul că dieta saracă în fibre și bogată în grăsimi saturate, carne roșie și/sau carne procesată industrial crește riscul apariției neoplasmului colonic prin contactul îndelungat și acțiunea acestor produși asupra mucoasei colorectale (Ryan-Harshman M, 2007).

Consumul de alcool reprezintă și el un factor de risc independent pentru apariția cancerului colorectal, risc direct proporțional cu cantitatea totală de alcool consumată de pacient (V. Fedirko, 2011).

1.6. Consumul de tutun

Dezvoltarea cancerului colorectal presupune existența unui proces lent, desfășurat pe o perioadă lungă de timp. Apariția cancerului colorectal se traduce prin transformarea mucoasei normale a tubului digestiv prin parcurgerea mai multor etape intermediare către neoplasm invaziv de la leziune premalignă (displazie) la leziune malignă (Duan B, 2022). Majoritatea neoplasmelor colo-rectale se dezvoltă prin două secvențe. Cea mai frecventă secvență este reprezentată de malignizarea sporadică a polipilor adenomatoși, situație întâlnită în mai mult de 70% din cazuri (Bujanda L, 2010).

Fumatul reprezintă un factor de risc independent (Gram IT, 2020). Existența sa predispune la apariția polipilor colorectali, considerați a fi leziuni precanceroase cu potențial ulterior de degenerare malignă, proces dependent de timp (Amitay, 2020). Un alt potențial mecanism prin care fumatul poate crește riscul apariției cancerului colorectal este alterarea microflorei intestinale.

Un studiu de tip cohortă realizat în anul 2009 în Statele Unite ale Americii atestă, o creștere cu 30% a incidenței cancerului colorectal la fumătorii activi (Hannan LM, 2009).

1.7. Diabetul zaharat de tip II.

Conform datelor existente în literatura de specialitate, incidența și prevalența diabetului zaharat de tip II se află într-o continuă creștere. În anul 2019, au fost raportate 463 milioane de oameni cu diabet zaharat, reprezentând 9,3% din populația globală adultă cu vârste cuprinse între 20 și 79 ani. Pentru anul 2030, cercetătorii estimează creșterea numărului persoanelor diabetice la 578 milioane (10,2%), iar pentru anul 2045, estimările cresc la 700 milioane reprezentând un procent de 10,9% la nivel global (Pouya Saeedi, 2019). Datorită interacțiunilor complexe ale bolii cu toate aparatele și sistemele, s-a emis ipoteza prin care diabetul zaharat tip II, participă activ alături de obezitate în procesele de oncogeneză, nu doar pentru cancerul colorectal. Valori persistent crescute ale hemoglobinei glicozilate HbA1C, determinate de perioade constante de hiperglicemie, conduc la creșterea producției citokinelor proinflamatorii TNF α și IL6 și a speciilor reactive de oxigen (Lawler T, 2023). Inflamația persistentă în strânsă conexiune cu stresul oxidativ cronic, sunt factori de risc suplimentari pentru cancerul colorectal (Yu GH, 2022). Indiferent de durata de evoluție a bolii, diabetul este considerat factor de risc, cei mai afectați, sunt pacienții aflați în tratament cronic la domiciliu cu derivați de insulină, riscul acestor fiind de doua ori mai mare comparativ cu diabeticii în tratament cu antidiabetice orale. (Ferroni P, 2016).

1.8. Boala Crohn și RCUH

În boala Crohn și rectocolita ulcerohemoragică riscul de apariție al cancerului colorectal crește direct proporțional cu extensia și severitatea bolii, cât și cu durata acesteia, prin alterarea calitativă și cantitativă a țesuturilor, fapt datorat unei inflamații persistente, grefată de pusee de inflamație și remisiune, specifice acestor patologii (Stidham RW, 2018). Factorii care contribuie la dezvoltarea cancerului colorectal sunt reprezentați de debutul bolii inflamatorii la vârstă tânără, de evoluția de lungă durată, de extensia la nivelul colonului și de existența în antecedentele heredocolaterale ale pacientului a cancerului colorectal (HJ, 2008). După o evoluție îndelungată a patologiei, riscul crește cumulativ, iar ca valoare de referință pentru această boală, riscul se situează în jurul valorii de 2% la 10 ani. Riscul crește direct proporțional cu gradul de extensie al bolii la nivel colonic.

1.9. Antecedente personale patologice

Antecedentele personale patologice ale pacientului se referă la neoplasme colorectale sau la alte tipuri de neoplazii din istoricul personal al pacientului, precum și istoricul de iradiere (Sawicki T, 2021). În aceasta categorie putem include și prezența polipilor intestinali, unde riscul de a dezvolta neoplasm colorectal crește exponențial cu numărul acestora, aspect dictat de timpul scurs de la apariție până la momentul diagnosticului.

1.10. Antecedente heredocolaterale ale pacientului

Peste 30% din tumorile maligne colorectale apar în context ereditar, astfel riscul unui individ de a dezvolta un neoplasm colorectal se dublează în contextul în care prezintă o ruda de gradul I (părinți/frați/surori), diagnosticată / tratată pentru această patologie (Jasperson KW, 2010).

2. Factorii de prognostic în neoplasmul colorectal

2.1.Factorii de prognostic aflați în strânsă legătură cu tumora primară la momentul diagnosticului

Factorii aflați în strânsă legătură cu tumora primară la momentul diagnosticului pot fi sintetizați în factori ce țin de dimensiunea tumorală inițială, gradul acesteia de invazivitate raportat la țesuturile adiacente și aspectul macroscopic prezent atât la vizualizarea colonoscopică, cât și intraoperator, caracterul de urgență al intervenției și marginile de rezecție după instituirea tratamentului chirurgical. Câteva aspecte particulare legate de acești factori vor fi prezentate în acest material.

2.1.1.Dimensiunea tumorală

Dimensiunea tumorală cuprinsă în clasificarea și stadializarea TNM a cancerelor colorectale, a fost considerată inițial un factor de prognostic negativ, asociată întotdeauna cu invazia locală a tumorii și diseminarea la distanță a acesteia. De-a lungul timpului, studiile au demonstrat în cazul neoplasmelor colorectale, o excepție de la această regulă, confirmată prin faptul că dimensiunea tumorală nu s-a corelat statistic cu un prognostic mai rezervat, iar supraviețuirea medie la 5 ani nu a fost cu mult afectată. Dimensiunea tumorală la momentul diagnosticului, poate influența atitudinea terapeutică chirurgicală și tipul de abord al acesteia cât și evoluția pacientului imediat postoperator, însă pe termen lung, evoluția acestor pacienți din punct de vedere prognostic este relativ similară cu a celor diagnosticați inițial cu tumori mai puțin voluminoase (Balta AZ, 2014).

2.1.2.Invazia tumorală macroscopică a tumorii primare

Invazia tumorală macroscopică a organelor învecinate și a seroasei peritoneale, reprezintă un stadiu tumoral avansat, conform stadializării TNM. Aceasta a fost îndelung studiată, mai ales din perspectiva oncologică prognostică a evoluției acestor pacienți (MIM, 2023). S-a constatat un impact major, cu un prognostic slab pentru pacienții unde a fost confirmată histopatologic invazia în structurile aflate peritumoral și un impact mult mai sever în prezența însămânțării tumorale peritoneale, caz în care, supraviețuirea la 5 ani tinde către 0% (Monahan BV, 2023).

2.1.3.Aspectul macroscopic al tumorii primare

Morfopatologic, un aspect relevant și un factor de prognostic negativ, este aspectul macroscopic al tumorii primare și marginile acesteia de exereză postoperator (L. Ludeman, 2006). Spre deosebire de tumorile vegetante, tumorile ulcero-infiltrative par a avea un prognostic oncologic mai rezervat, reprezentat prin capacitatea crescută a acestora de diseminare la distanță și riscul crescut de perforație al organului afectat, cu complicațiile ulterioare ale peritonitei (Otani K, 2019).

2.1.4.Marginile de rezecție ale tumorii

Un aspect particular, controversat al chirurgiei colorectale moderne, este cel al marginilor de siguranță oncologică constatate pe piesa de exereză postoperatorie. Se consideră suficiente realizarea unor margini de rezecție de cel puțin 5-7 cm în amonte sau în aval, raportate la localizarea tumorii în chirurgia colorectală cu viză radicală oncologică (Ueno H, 2023). Acest deziderat este realizat pentru a minimiza riscul recidivei tumorale locoregionale, în special la nivelul capetelor colonice rămase restante după exereza piesei tumorale indiferent dacă intervenția chirurgicală se încheie cu anastomoză sau cu derivație externă (Aarons CB, 2013).

2.1.5.Caracterul de urgență al intervenției chirurgicale

Cu impact negativ sever, trebuie menționată și tumora cu fenomene digestive ocluzive, mai ales în cazul tumorilor vegetante, voluminoase, localizate la nivelul colonului drept și la nivelul colonului transvers, care impun tratament chirurgical instituit prompt, în regim de urgență, cât și tumorile mici stenoizante localizate la nivelul colonului stâng și la nivelul rectului, predispuse la perforație diastatică de cec (Ziani H, 2024). Astfel de intervenții nu permit realizarea unei stadializări preoperatorii adecvate și elimină potențialele beneficii ale tratamentului neoadjuvant chimioterapic, stadializarea cazului realizându-se postoperator, atunci când situația pacientului o permite (Georgiana B. Constantin, 2020).

2.2.Factori de prognostic histopatologici ai tumorii primare în cancerul colorectal

Descoperirea tardivă a bolii neoplazice colorectale, în faze avansate, implică de multe ori posibilitatea ca aceasta să fi diseminat la nivelul altor aparate și sisteme. Boala localizată devine astfel o boală sistemică cu implicații și complicații variabile în funcție de noua sau noile localizări. Procesul de diseminare al bolii neoplazice este un proces cunoscut, descris în literatura de specialitate și evaluat în stadializarea TNM a neoplasmelor colorectale. Cele mai cunoscute și studiate căi de diseminare ale neoplasmului colorectal, sunt cele limfoganglionare, limfovaskulare și perineurale:

2.2.1.Diseminarea limfoganglionară

Invazia tumorală decelată histopatologic a ganglionilor limfatici locoregionali, constituie unul dintre cei mai importanți factori de prognostic negativ în evoluția neoplasmului colorectal. Absența invaziei certificată pe buletinele histopatologice ale pieselor de exereză dintr-o intervenție chirurgicală cu viză radicală oncologică (rezeccii R0), se poate corela cu un prognostic de supraviețuire de până la 90% evaluat la 5 ani, acesta scăzând dramatic în situația în care determinările secundare tumorale sunt confirmate în stațiile limfoganglionare de drenaj intermediare.

O situație particulară, mult mai severă, se referă la invazia tumorală a limfoganglionilor centrali, aspect ce sugerează o posibilă diseminare a celulelor tumorale la distanță de tumora primară. Invazia limfoganglionară, reprezintă un parametru important și indubitabil un factor de prognostic negativ în cea de-a 8-a clasificare TNM, unde prezența certificată anatomopatologic a celulelor tumorale reprezintă cel puțin un stadiu tumoral IIIA.

În prezent ghidurile actuale recomandă evaluarea histopatologică a unui număr de cel puțin 12 limfoganglioni peritumorali pe piesa de exereză pentru a putea stabili cu certitudine prezența sau absența determinărilor secundare la distanță cu interesare limfoganglionară (Compton CC, 2004). Examinarea de către medicul anatomopatolog a unui număr cât mai mare de limfoganglioni permite o mai bună stadializare a cazului, astfel pot fi evitate erorile de diagnostic și încadrarea eronată, printr-un rezultat fals negativ într-un stadiu tumoral mai puțin avansat (Weiser, 2018). Diferența semnificativă statistic a ratelor de supraviețuire la pacienții cu cancer colorectal

diagnosticați într-un stadiu avansat, a dus la necesitatea subclasificării invaziei limfoganglionare în funcție de numărul de limfoganglioni invadați confirmați histopatologic din totalul limfoganglionilor examinați pe piesa operatorie. Cea de-a 8-a stadializare TNM propusă de AJCC, subclasifică diseminarea limfoganglionară în funcție de numărul limfoganglionilor constatați a fi invadați (Arrichiello G, 2022). Astfel, 1-3 limfoganglioni invadați tumoral reprezintă categoria N1, categorie subîmpărțită în 3 subgrupuri (Ueno H, 2023). Afectarea tumorală a mai mult de 4 limfoganglioni reprezentând categoria N2, categorie subîmpărțită la randul său în 2 subcategorii (Weiser, 2018).

Stadializarea corectă a neoplasmului colorectal poate fi de multe ori dificilă și greu de obținut (Puppa G, 2010). Dificultatea efectuării unei stadializări corecte se datorează în principal prezenței micrometatazelor la nivel limfoganglionar (G. Botiraliyeva, 2016). Diseminările microscopice sunt de multe ori omise la examenul histopatologic, aspect ce pledează pentru un management terapeutic uneori inadecvat cazului, aspect datorat încadrării lui într-un stadiu tumoral mai puțin avansat (H, 2022). Examinarea efectuată microscopic, nu prezintă uneori caractere sugestive pentru prezența determinarilor secundare tumorale limfoganglionare (Dipti M. Karamchandani, 2020). Invazia micrometastatică este considerată un factor de risc independent, cu un impact major asupra evoluției unui pacient cu neoplasm colorectal (Hoorens, 2022). Existența acestora poate influența evoluția pacientului oncologic în două mari direcții. În primul rand aceasta poate duce la creșterea riscului de diseminare la distanță prin prisma prezenței celulelor tumorale izolate nevizualizate microscopic la nivel limfoganglionar, iar pe plan secund, prin tratamentul oncologic adjuvant neadecvat stadiului tumoral existent (Park SJ, 2008). Identificarea prezenței micrometastazelor implică creșteri semnificative ale costurilor alocate diagnosticului și tratamentului unui pacient oncologic. Imunohistochimia și tehnicile PCR nu sunt în prezent utilizate la scară largă în practica de rutină, având indicații electivă în neoplasmul colorectal (Omran, 2024).

2.2.2. Invasia limfovaculară (LVI)

Invasia limfovaculară (LVI) este definită de prezența celulelor tumorale la nivelul vaselor de sânge sau la nivelul vaselor limfatice, vizualizate prin microscopie. Trebuie menționată obligatoriu, dificultatea tehnică cu care se confruntă anatomopatologul. Decelarea invaziei limfovaculară reprezintă un factor de prognostic negativ ce poate influența decizia terapeutică

ulterioară. prezența celulelor tumorale la acest nivel indicând un potențial crescut de diseminare la distanță a tumorii primare (Harris EI, 2008) (Gao, 2021). Neoplasmele colorectale cu invazie limfovasculară pozitivă prezintă un risc crescut de recidivă locoregională (Wang X, 2021).

Prezența invaziei tumorale la nivelul vaselor mici nemuscularizate poate fi reprezentată de invazia limfaticelor postcapilare sau a venulelor, ambele variante reprezentând factori de prognostic negativi (Santos C, 2013). Invazia vasculară în neoplasmele colorectale diagnosticate într-un stadiu avansat, este reprezentată în mai mult de 99% din cazuri de invazia venoasă. Decelarea microscopică a invaziei pe piesele analizate histopatologic a fost catalogată drept factor de prognostic negativ. În situațiile în care se certifică prezența invaziei vasculare, riscul recidivei locoregionale crește exponențial, în mod similar, riscul apariției determinărilor secundare la distanță (Bianchi, 2021). Invazia venoasă extramurală prezintă un impact mult mai sever asupra intervalului liber de boală și asupra supraviețuirii la 5 ani comparativ cu invazia intramurală (Knijn N, 2018).

2.2.3. Invazia perineurală (PNI)

Invazia perineurală (PNI) reprezintă un parametru relativ nou, care până de curând a beneficiat de puțin interes în literatura de specialitate, cu o dinamică care nu este pe deplin cunoscută, având multe mecanisme moleculare implicate (Qi Liu, 2022). Descrisă la începutul anilor 1800, calea de diseminare perineurală are o importanță deosebită în prezent și reprezintă un factor de prognostic negativ în procesele neoplazice ale prostatei, ale pancreasului, ale stomacului, ale căilor biliare și în procesele neoplazice cu localizări colorectale (Chen SH, 2019) (Schouten TJ, 2024). Prima definiție a invaziei perineurale a fost elaborată de Batsakis, mult mai târziu, în anul 1985 (JG., 1985). Constatările acestuia fac referire la invazia microscopică a structurilor nervoase conjunctive ce intră în alcătuirea nervului, acestea având cel mai mic grad de rezistență. Invazia tumorală perineurală descrisă de Batsakis poate fi constatată în mod direct prin invazia de vecinătate sau prin diseminare la nivel endolinfatic (JG., 1985). Plecând de la cercetările efectuate de acesta, au fost descrise în literatura de specialitate mai multe teorii referitoare la invazia tumorală perineurală, având ca principală cale de diseminare traiectele limfatice, ulterior acestea au fost abandonate. Studiile publicate ulterior au demonstrat lipsa vaselor limfatice în interiorul tecii nervului (Reina MA, 2000).

Modul prin care se constituie invazia perineurală necesită cunoașterea detaliată a structurii de bază și a componenței tecii nervilor periferici. Nervul este alcătuit din 3 straturi de țesut conjunctiv. Componentele acestuia sunt reprezentate de epinerv, perinerv și endonerv.

Epinervul reprezintă stratul periferic al nervului și este compus dintr-un strat extern ce are în compoziție țesut conjunctiv areolar și un strat intern alcătuit din fibre elastice și fibre de collagen. Rolul principal al epinervului este reprezentat de interconectarea unuia sau a mai multor fascicule într-un singur nerv (Reina MA, 2020). Epinervul conține vase limfatice și componenta epirenurală a vasa nervorum.

Perinervul reprezintă stratul de mijloc din componența tecii nervului. Structura acestuia cuprinde celule endoteliale dispuse concentric, în straturi, delimitate de fiecare parte de către membrana bazală (Akert K, 1976).

Endonervul reprezintă stratul intern al structurii nervului. Acest ultim strat este alcătuit din țesut conjunctiv intrafascicular dispus în jurul fibrelor nervoase, a axonilor și a celulelor Schwann. Țesutul conjunctiv însoțește vasele sanguine endoneurale existente, iar această structură poartă numele de barieră hemato-neurală (S, 2015).

În prezent, diagnosticul de invazie perineurală se referă la decelarea prin microscopie la examenul histopatologic a invaziei tumorale în oricare dintre cele 3 straturi ce intră în structura și componența tecii nervului, epinerv, perinerv și endonerv (Liebig C, 2009).

Pentru invazia perineurală au fost descrise mai multe scenarii prin care celulele tumorale pot intra în contact cu structurile nervoase. Astfel în definiția actuală a invaziei perineurale, contactul celulelor tumorale poate fi unul tangential printr-un contact intim al tumorii cu nervul sau un contact cu invazie circumferențială prin includerea nervului parțială sau totală în structura tumorală (Goswami PR, 2023). Aceste aspecte microscopice sunt patognomonice și ușor de recunoscut la examenul histopatologic, dacă invazia perineurală este la distanță de tumora primară și mult mai dificil, dacă invazia perineurală este în cadrul tumorii primare. Se consideră invazie perineurală pozitivă atunci cel puțin 33% din circumferința nervului este afectată tumoral, orice valoare mai mică de 33% reprezentând infiltrare tumorală focală și nu poate certifica invazia perineurală (Liebig C, 2009).

II. CONTRIBUȚII PERSONALE

3. Ipoteză de lucru și obiective generale

Studiul actual analizează 241 de pacienți internați, diagnosticați cu cancer de colon și operați în Clinica de Chirurgie a Spitalului Clinic Colțea. Datele au fost obținute prin analiza documentelor medicale disponibile în clinică. S-a efectuat stadializarea pacienților și urmărire pe termen scurt. Evaluarea intervalului liber de boală și a supraviețuirii nu a fost posibilă, întrucât numeroși pacienți au fost pierduți din evidență. Vârsta și sexul pacienților sunt variabile ale studiului care trebuie comparate cu datele de literatură. S-a remarcat o creștere a incidenței acestei neoplazii și la femei (date raportate de Globocan), astfel că se impune și o eventuală certificare în acest lot. Vârsta constituie un factor important în atitudinea terapeutică, dar trebuie analizată ca o componentă dinamică, cu impact semnificativ populațional. Localizarea tumorală este relevantă, iar variabilitatea acesteia în cadrul studiului impune analiză suplimentară. Aceasta poate întârzia prezentarea pacientului la medic prin simptomatologie minimă (în absența unor programe de screening eficiente) și poate genera complicații medicale și/sau chirurgicale ce pot transforma o abordare electivă multidisciplinară într-o indicație de urgență cu viză posibil paleativă. Sindromul anemic secundar generat are o etiologie complexă și necesită management particular. Tipul histopatologic și gradul de diferențiere sunt esențiale acestui studiu și impun corelații cu prezența sau absența invaziei perineurale și/sau limfovaskulare, precum și cu localizarea tumorală.

Scopul studiului constă în analiza datelor obținute pentru a evalua importanța invaziei perineurale și limfovaskulare precum și limfoganglionare la pacienții cu cancer de colon. Se presupune că prezența acestor markeri de severitate este identificată mai ales la pacienții în stadiu avansat, la care se pot asocia complicații preoperatorii de sferă medicală sau chirurgicală. De interes reprezintă și cercetarea ipotezei conform căreia anumite localizări ale neoplaziei se asociază mai frecvent cu invazii tumorale perineurale sau limfovaskulare. De asemenea, se va evalua prezența markerilor descriși în stadii tumorale ce permit intervenția cu viză radicală și nu paleativă, precum este situația pacienților în stadiu IV sau cu complicații chirurgicale majore ce impun intervenție de urgență.

4. Metodologia generală a cercetării

Prezentul material reprezintă un studiu retrospectiv, observațional, nerandomizat, desfășurat pe o perioadă de 5 ani, între anii 2015-2019 inclusiv, în cadrul Clinicii de Chirurgie Generală a Spitalului Clinic Colțea din București. Cercetarea a presupus analiza unui eșantion alcătuit din 241 pacienți cu neoplasm de colon aflați în stadii diferite de boală la care s-a intervenit chirurgical în scop curativ sau paleativ, prin abord clasic sau minim invaziv.

Cazurile preluate în acest material sunt reprezentative pentru o populație de pacienți diagnosticați și tratați într-un centru terțiar.

Criteriile de includere în studiu au fost reprezentate de:

- Pacienți cu vârsta mai mare de 18 ani,
- Pacienți cu tumoră malignă tipizată histopatologic anterior intervenției chirurgicale
- Pacienți cu tumoră malignă primară cu localizare la nivelul colonului ceco-ascendent, la nivelul colonului transvers, la nivelul colonului descendent și la nivelul colonului sigmoid.

Criteriile de excludere din studiu au fost reprezentate de:

- Pacienți cu tumori maligne la nivelul rectosigmoidului,
- Pacienți cu formațiuni tumorale de origine extracolonică dar cu invazie prin contiguitate sau determinari secundare la nivelul colonului care necesită intervenție chirurgicală,
- Pacienți cu date incomplete.

Dificultăți întâmpinate în obținerea rezultatelor:

- Non-complianța pacienților la falloow-up,
- Lipsa colaborării interdisciplinare,
- Identificarea unui numar restrâns de cazuri de neoplasm de colon sau urmărirea dificilă a acestora pe toată durata desfășurării studiului

5. Studiul I-Invazia limfovasculară (LVI)

1. Din totalul cazurilor incluse în studiu, au fost decelate 116 cazuri pacienți de sex masculin și 125 cazuri pacienți de sex feminin, reprezentând un procent de 48,13%, respectiv 51,86%. Distribuția cazurilor în lotul de studiu a fost relativ similară, dar numărul total de cazuri cohortate este unul relativ mic în comparație cu datele prezente în literatura de specialitate, date care indică o incidentă mai mare a neoplasmului colorectal la bărbați în comparație cu femeile (Choi Y, 2024) (White A, 2018).

2. Vârsta pacienților analizați a fost cuprinsă între 34 ani și 92 ani. Vârsta medie a fost de 69,14 ani, cu o mediană a vârstei de 70 ani. Rogers JE și Johnson B publică în 2021 un studiu care evidențiază o scădere a medianei vârstei, de la 72 ani la începutul anilor 2000, la 66 ani, valoare aflată pe o pantă descendentă, pe măsură ce incidența cancerului colorectal se află într-o continuă creștere la subiecții tineri (Rogers JE, 2021).

3. Cel mai întâlnit grad de diferențiere tumorală în lotul de cazuri studiat a fost reprezentat de adenocarcinomul moderat diferențiat G2 regăsit în 48,9% din cazuri, urmat de adenocarcinomul bine diferențiat G1, reprezentat de 44,3% din cazuri. În practica medicală curentă, adenocarcinomul moderat diferențiat este regăsit având cea mai mare frecvență, urmat de adenocarcinomul bine diferențiat (Fleming M, 2012).

4. Am identificat 24 cazuri (9,95%) din totalul celor 241, reprezentate de 11 cazuri de sex feminin (45,83%) și 13 cazuri de sex masculin (54,16%) cu invazie limfovasculară prezentă (LVI+) pe buletinele histopatologice. Studiile de specialitate raportează prezenta invaziei limfovasculare între 5,2 și 89,5%, variația procentuală fiind în strânsă corelație cu stadializarea tumorală a cazului neoplazic (Zarbaliyev E, 2024).

5. Localizarea cea mai frecventă a cazurilor LVI+ a fost la nivelul colonului drept unde au fost decelate cele mai multe cazuri, respectiv 13, reprezentând un procent de 54,1% din total.

Următoarea localizare a fost la nivelul colonului sigmoid cu 8 cazuri identificate de LVI+ reprezentând 33,3%. În 2024 Petrov Krasimir publică un articol în care clasifică localizarea invaziei limfovasculare în funcție de distribuția cazurilor la nivelul colonului drept, colonului stâng și rectului și identifică porțiunea ceco-ascendentă a colonului drept principala localizare a cazurilor LVI (Petrov Krasimir, 2024).

6. Pe baza analizei efectuate, am determinat un număr de 13 cazuri LVI+, reprezentând un procent de 54,1% din totalul pacienților incluși în studiu cu invazie limfovasculară ce se identifică cu adenocarcinomul moderat diferențiat G2. Pe locul doi, a fost identificată invazia limfovasculară la tumorile reprezentate de adenocarcinomul bine diferențiat G1 cu un total de 6 cazuri, reprezentând 25% din totalul pacienților studiați.

7. Din totalul de 13 cazuri identificate cu LVI+ la nivelul colonului drept, 7 dintre acestea au fost reprezentate de adenocarcinomul moderat diferențiat G2, reprezentând un procent de 53,8%. La nivelul colonului sigmoid, dintr-un total de 8 cazuri identificate cu LVI+, 5 cazuri au fost decelate având același grad de diferențiere reprezentând un procent de 62,5%.

8. Invazia limfovasculară a fost identificată cel mai frecvent la pacienții aflați în stadiul III B al bolii neoplazice, într-un procent de 25% din totalul cazurile LVI pozitive.

9. Complicațiile asociate bolii de bază, identificate la momentul internării, precum anemie, stenoza și ocluzie, au prezentat OR de invazie limfovasculară de aproape 3 ori mai mare (Emil-Marian Popescu, 2025a).

10. Pacienții cu neoplasm de colon stadializați T3, au avut OR de invazie limfovasculară de 6 ori mai mari (marginal ne semnificativ), iar pacienții stadializați T4 au avut OR de invazie vasculară de 24 ori mai mari. Incidența cazurilor cu invazie limfovasculară crește proportional cu stadiul tumoral T (Wang X, 2021) (Akagi Y, 2013) (Aktekin A, 2015).

11. Pacienții cu neoplasm de colon stadializați N1 au prezentat OR de 3,18 ori mai mari pentru invazia limfovasculară, comparativ cu pacienții stadializați N2 care au prezentat OR de 9,5 ori mai mari. Emile SH identifică în studiul său apariția cu o frecvență mult mai mare a invaziei

limfovaskulare la pacienții cu determinări secundare limfoganglionare comparativ cu pacienții decelați în stadiul N0 (Emile SH, 2025).

12. Pacienții cu determinări secundare la distanță au prezentat OR de 5.5 ori mai mari pentru invazie limfovaskulară în comparație cu pacienții fără determinări secundare decelate. Invazia limfovaskulară se asociază conform datelor existente în literatură cu diseminarea limfoganglionară și boala metastatică (Chen K, 2021).

13. OR pentru invazia limfovaskulară a fost de 2,73 ori mai mari în stadiul III al bolii (marginal nesemnificativ) și respectiv de 8,60 ori mai mari pentru stadiul IV raportat la stadiile I și II.

14. Pentru fiecare 1 limfoganglion invadat tumoral excizat în plus, se asociază o creștere cu 17% a OR pentru invazia limfovaskulară. Mai multe studii au raportat un prognostic mai slab la pacienții la care intervenția chirurgicală a presupus exereza a mai puțin de 12 limfoganglioni așa cum recomandă AJCC în cadrul stadializării TNM ediția cu numărul 8 (Bozkurt O, 2019).

15. Am identificat doar doi predictorii independenți pentru apariția invaziei limfovaskulare, aceștia sunt reprezentați de stadiile tumorale T și N, informație superpozabilă cu datele regăsite în literatură de specialitate, unde stadiul T este considerat cel mai important predictor (Bianchi, 2021).

16. Numărul de limfoganglioni decelați pozitivi, excizați și evaluați histopatologic, a fost în medie de 4 ori mai mare la pacienții cu invazie limfovaskulară prezentă comparativ cu pacienții fără invazie.

6. Studiul II-Invazia perineurală (PNI)

1. Din totalul cazurilor incluse în studiu, au fost decelate 116 cazuri pacienți de sex masculin și 125 cazuri pacienți de sex feminin, reprezentând un procent de 48,13%, respectiv 51,86%. Distribuția cazurilor în lotul de studiu a fost relativ similară, dar numărul total de cazuri cohortate este unul relativ mic în comparație cu datele prezente în literatura de specialitate, date care indică o incidentă mai mare a neoplasmului colorectal la bărbați în comparație cu femeile (Choi Y, 2024) (White A, 2018).

2. Vârsta pacienților analizați a fost cuprinsă între 34 ani și 92 ani. Vârsta medie a fost de 69,14 ani, cu o mediană a vârstei de 70 ani. Rogers JE și Johnson B publică în 2021 un studiu care evidențiază o scădere a medianei vârstei, de la 72 ani la începutul anilor 2000, la 66 ani, valoare aflată pe o pantă descendentă, pe măsură ce incidența cancerului colorectal se află într-o continuă creștere la subiecții tineri (Rogers JE, 2021).

3. Cel mai întâlnit grad de diferențiere tumorală în lotul de cazuri studiat a fost reprezentat de adenocarcinomul moderat diferențiat G2 regăsit în 48,9% din cazuri, urmat de adenocarcinomul bine diferențiat G1, reprezentat de 44,3% din cazuri. În practica medicală curentă, adenocarcinomul moderat diferențiat este regăsit având cea mai mare frecvență urmat de adenocarcinomul bine diferențiat (Fleming M, 2012).

4. Am identificat 34 cazuri, reprezentate de 15 cazuri de sex feminin (44,1%) și 19 cazuri de sex masculin (55,8%) cu invazie perineurală prezentă (PNI+) pe buletinele histopatologice. Vakili publică în 2014 un studiu în care prevalența invaziei perineurale în cazuistica sa este mai mare la sexul masculin comparativ cu sexul feminin (Vakili M, 2014).

5. Localizarea cea mai frecventă a cazurilor PNI+ a fost la nivelul colonului drept unde au fost decelate cele mai multe cazuri, respectiv 18, reprezentând un procent de 52,9% din total. Următoarea localizare a fost la nivelul colonului sigmoid cu 12 cazuri identificate de PNI+ reprezentând 35,2%. Catherine Liebig în lucrarea sa publicată în anul 2009, identifică cea mai

frecventă localizare a cazurilor cu invazie perineurală prezentă la pacienții cu neoplasm colorectal, la nivelul rectului, iar următoare localizare ca frecvență la nivelul colonului drept (Liebig C, 2009).

6. Pe baza analizei efectuate, am determinat un număr de 18 cazuri PNI+, reprezentând un procent de 52,9% din totalul pacienților studiați ce se identifică cu adenocarcinomul bine diferențiat G1. Pe locul 2 a fost identificată invazia perineurală la tumorile reprezentate de adenocarcinomul moderat diferențiat G2 cu un total de 13 cazuri, reprezentând 38,2% din totalul pacienților. Zozaya relatează în studiul său relația dintre invazia perineurală și stadializarea TNM, gradul de diferențiere tumorală și invazia limfovasculară (Zozaya, 2023).

7. Din totalul de 18 cazuri PNI+ la nivelul colonului drept, 8 cazuri au fost reprezentate de adenocarcinomul bine diferențiat G1 reprezentând un procent de 44,4% și 7 cazuri de adenocarcinomul moderat diferențiat G2 reprezentând un procent de 38,8%.

8. Invazie perineurală a fost identificată cel mai frecvent la pacienții aflați în stadiul III B al bolii neoplazice, într-un procent de 26,4% din totalul cazurilor LVI+. Invazia perineurală este un factor de prognostic negativ, independent citat în literatura de specialitate (Chu, 2024).

9. Ocluzia, complicație asociată bolii de bază, diagnosticată la momentul internării, a prezentat OR de 3,5 ori mai mare pentru invazie perineurală comparativ cu pacienții la care aceasta nu a fost identificată. În cadrul lucrării publicate în 2019, Nozawa descrie o legătură strânsă între obstrucția intestinală și invazia perineurală și pune recidiva precoce postoperatorie pe seama acestei conexiuni. (Nozawa H, 2019) (Emil-Marian Popescu, 2025b).

10. Pacienții cu neoplasm de colon stadializați T3 au avut OR de invazie perineurală de 4,5 ori mai mari, iar pacienții aflați în stadiul T4 al bolii, au avut OR de 17,4 ori mai mari. Studiile de specialitate au identificat o asociere statistică strânsă între invazia perineurală decelată la examenul histopatologic și stadiul tumoral T al tumorii. (Zahir, 2024).

11. Pacienții cu neoplasm de colon stadializați N1 au avut OR de invazie perineurală de 2,71 ori mai mari comparativ cu pacienții stadializați N2 care au prezentat OR de 3,90 ori mai mari. Un studiu publicat în anul 2024 în revista Fortune Journal of Health Sciences, evidențiază o asociere statistică cu $p < 0,001$ pentru invazia perineurală și stadiul tumoral N1 (Mohammad Zillur Rahman,

2024). Invazia perineurală reprezintă un factor de prognostic negativ, independent pentru determinările secundare limfoganglionare (Betge J, 2011).

12. Pacienții cu determinări secundare la distanță au prezentat OR de 3 ori mai mari pentru invazie perineurală în comparație cu pacienții fără determinări secundare prezente. La momentul stabilirii diagnosticului, conform literaturii de specialitate, pacienții cu invazie perineurală pozitivă pe buletinele histopatologice, prezintă risc de 5 ori mai mare pentru determinări secundare la distanță în comparație cu pacienții fără invazie perineurală prezentă (Liebig C, 2009) (Emil-Marian Popescu, 2025c).

13. OR pentru invazia perineurală a fost de 2,08 ori mai mari în stadiul III al bolii (marginal ne semnificativ) și respectiv de 4,10 ori mai mari pentru stadiul IV raportat la stadiile I și II.

14. Pentru fiecare 1 limfoganglion invadat excizat în plus se asociază o creștere cu 3 % a OR pentru invazie perineurală (efect marginal ne semnificativ).

15. Am identificat 3 predictorii independenți pentru invazia perineurală, aceștia sunt reprezentați de prezența ocluziei la momentul diagnosticului și stadiile tumorale T și N. Un studiu din 2010 efectuat pe un lot de 381 pacienți cu neoplasm colorectal, conturează asocierea dintre stadiul tumoral T, stadiul tumoral N și invazia perineurală (Poeschl EM, 2010).

16. Numărul de limfoganglioni decelați pozitivi, excizați și evaluați histopatologic a fost în medie de aproximativ 2 ori mai mare la pacienții cu invazie perineurală în comparație cu pacienții fără invazie perineurală.

7. Concluzii și contribuții personale

7.1. Concluzii

Prin analiza statistică a datelor obținute au fost constatate următoarele:

- Pacienții cu invazie limfovasculară prezentă au fost diagnosticați mai frecvent în stadiul tumoral T4 al bolii, situație similară și în cazul invaziei perineurale,
- Atât invazia limfovasculară cât și invazia perineurală au fost decelate mai frecvent în stadiile de boală N1 și N2, comparativ cu stadiul N0,
- În cazul invaziei limfovasculare și / sau perineurale, pacienții au fost identificați mai frecvent având determinări secundare la distanță de tumora primară (stadiul M1),
- Invazia limfovasculară și / sau invazia perineurală au fost identificate cel mai frecvent în stadiile III și IV ale clasificării TNM.

În concluzie, LVI și PNI se asociază în principal cu neoplasmele colorectale aflate în stadiu avansat. Decelarea acestora pe piesele postoperatorii poate orienta medicul curant referitor la prognosticul pacientului oncologic și poate ajuta în managementul terapeutic ulterior. Complexitatea bolii neoplazice colorectale și potențialul ei evolutiv necesită o buna colaborare multidisciplinară.

7.2. Contribuții personale

1. Cel mai frecvent grad de diferențiere tumorală întâlnit în cazuistica neoplasmului colorectal este reprezentat de adenocarcinomul moderat diferențiat G2 (capitolul 5.3, paragraful 2, pagina 32),
2. Localizarea cea mai frecventă a cazurilor LVI+ și PNI + este la nivelul colonului drept, urmată de localizarea la nivelul colonul sigmoid (capitolul 5.3, tabelul 5.3, pagina 34 și capitolul 6.3, tabelul 6.3, pagina 68),
3. Gradul de diferențiere G2 se asociază cel mai frecvent cu invazia limfovasculară (capitolul 5.3, tabelul 5.4, pagina 35),

4. Gradul de diferențiere G1 se asociază cel mai frecvent cu invazia perineurală (capitolul 6.3, tabelul 6.4, pagina 69),
5. LVI și PNI se asociază cel mai frecvent cu stadiul tumoral III B (capitolul 5.3, tabelul 5.6, pagina 36 și capitolul 6.3, tabelul 6.6, pagina 70),
6. Complicațiile asociate bolii de bază la internare precum anemia, stenoza și ocluzia prezintă OR de 3 ori mai mari pentru LVI (capitolul 5.3, paragraful 1, pagina 38),
7. Pacienții cu ocluzie intestinală prezintă OR de 3,5 ori mai mari pentru PNI (capitolul 6.3, paragraful 1, pagina 73),
8. Am identificat 2 predictori independenți pentru LVI: stadiul tumoral T și stadiul tumoral N (creșterea stadiului tumoral T și/sau stadiul tumoral N duce la creșterea OR pentru LVI) (capitolul 5.3, paragraful 1, pagina 49),
9. Am identificat 3 predictori independenți pentru PNI: ocluzia, stadiul tumoral T și stadiul tumoral N (existența ocluziei, creșterea stadiului tumoral T și/sau stadiului tumoral N duce la creșterea OR pentru PNI) (capitolul 6.3, paragraful 1, pagina 86),
10. Pentru fiecare creștere cu 1 limfoganglion excizat și evaluat histopatologic OR pentru LVI crește cu 17% și pentru PNI crește cu 3% (capitolul 5.3, paragraful 1, pagina 44 și capitolul 6.3, paragraful 1, pagina 79),
11. Pacienții cu determinări secundare la distanță prezintă OR de 5,5 ori mai mari pentru LVI și de 3 ori mai mari pentru PNI (capitolul 5.3, paragraful 1, pagina 41 și capitolul 6.3, paragraful 1, pagina 77),
12. Numărul de limfoganglioni invadați tumoral este în medie de 4 ori mai mare la pacienții cu LVI și în medie de 2 ori mai mare la pacienții cu PNI (capitolul 5.3, paragraful 1, pagina 58 și capitolul 6.3, paragraful 1, pagina 96).

Bibliografie selectivă

- Aarons CB, M. N., 2013. Current surgical considerations for colorectal cancer. *Chin Clin Oncol*, 2((2):14).
- Akagi Y, A. Y. O. T. K. T. S. K., 2013. Prognostic impact of lymphatic invasion of colorectal cancer: a single-center analysis of 1,616 patients over 24 years. *Anticancer Res*, pp. 33(7):2965-2970.
- Akert K, S. C. W. E. P. K. M. H., 1976. The fine structure of the perineural endothelium. *Cell Tissue Res*, 165((3):281-295).
- Aktekin A, Ö. S. G. G. O. M. M. T. S. A., 2015. The Factors Effecting Lymphovascular Invasion in Adenocarcinoma of the Colon and Rectum. *Indian J Surg*, pp. 77(Suppl 2):314-318.
- Amersi F, A. M. K. C., 2005. Colorectal cancer: epidemiology, risk factors, and health services. *Clin Colon Rectal Surg*, 18((3):133-140).
- Amirsasan, R. A. M. & A. S., 2022. Exercise and colorectal cancer: prevention and molecular mechanisms. *Cancer Cell Int*, 22((1):247).
- Amitay, E. C. P. J. L. e. a., 2020. Smoking, alcohol consumption and colorectal cancer risk by molecular pathological subtypes and pathways. *Br J Cancer*, 122((11):1604-1610).
- Anon., fără an *American Cancer Society Guideline for Colorectal Cancer Screening*. [Interactiv]
Available at: <https://www.cancer.org/cancer/types/colon-rectal-cancer/detection-diagnosis-staging/acs-recommendations.html>
[Accesat 27 02 2025].
- Arrichiello G, P. M. F. B. e. a., 2022. Beyond N staging in colorectal cancer: Current approaches and future perspectives. *Front Oncol*, 12(937114).
- Balta AZ, Ö. Y. S. İ. e. a., 2014. Can horizontal diameter of colorectal tumor help predict prognosis?. *Ulus Cerrahi Derg*, 30((3):115-119).
- Betge J, P. M. K. P. R. P. V. M. L. C., 2011. Perineural invasion is a strong and independent predictor of lymph node involvement in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*, p. 54 (11):e273.
- Bhimani N, W. G. M. C. P. N. D. C. C. S. D. M. H. T., 2022. Cost of treating metastatic colorectal cancer: a systematic review. *Public Health*, Issue 211:97-104.
- Bianchi, G. A. A. M. A. e. a., 2021. Three distinct outcomes in patients with colorectal adenocarcinoma and lymphovascular invasion: the good, the bad, and the ugly. *Int J Colorectal Dis*, 36((12):2671-2681).
- Bozkurt O, F. S. D. E. İ. M. D. K. Z. G. e. a., 2019. The Impact of Lymphovascular Invasion on Recurrence-Free Survival in Patients with High-Risk Stage II Colorectal Cancer Treated with Adjuvant Therapy. *Erciyes Med J*, p. 41 (2): 191–195..
- Brouwer NPM, B. A. L. V. e. a., 2018. An overview of 25 years of incidence, treatment and outcome of colorectal cancer patients. *Int J Cancer*, 143((11):2758-2766).
- Bujanda L, C. A. G. I. A.-M. J., 2010. Malignant colorectal polyps. *World J Gastroenterol*, 16((25):3103-3111).

- Caiazza F, R. E. D. G. W. D. S. K., 2015. Estrogen receptors and their implications in colorectal carcinogenesis. *Front Oncol*, 5(19).
- Chen FW, S. V. C. T. L. U., 2017. Advanced-Stage Colorectal Cancer in Persons Younger Than 50 Years Not Associated With Longer Duration of Symptoms or Time to Diagnosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 15((5):728-737).
- Chen K, C. G. W. H. T. J., 2021. Pathological Features and Prognostication in Colorectal Cancer. *Curr Oncol*, pp. 28 (6):5356-5383.
- Chen SH, Z. B. Z. B. Z. C. S. L. F. Y., 2019. Perineural invasion of cancer: a complex crosstalk between cells and molecules in the perineural niche. *Am J Cancer Res*, 9((1):1-21).
- Chen, X. L. H. S. Q. e. a., 2018. Insulin promotes progression of colon cancer by upregulation of ACAT1. *Lipids Health Dis*, 17((1):122).
- Choi Y, K. N., 2024. Sex Difference of Colon Adenoma Pathway and Colorectal Carcinogenesis. *World J Mens Health*, 42((2):256-282), pp. (2):256-282.
- Chu, C. L. I. J. B. e. a., 2024. The prognostic and predictive significance of perineural invasion in stage I to III colon cancer: a propensity score matching-based analysis. *World J Surg Onc*, 22(129).
- Compton CC, G. F., 2004 . The staging of colorectal cancer: 2004 and beyond. *CA Cancer J Clin*, 54((6):295-308), pp. 295-308.
- Dipti M. Karamchandani, R. C. T. S. K. X. L. M. W. Z. Y. e. a., 2020. Challenges with colorectal cancer staging: results of an international study. *Modern Pathology*, 33((1):153-163).
- Duan B, Z. Y. B. J. e. a., 2022. Colorectal Cancer: An Overview. *Gastrointestinal Cancers*.
- Emile SH, H. N. G. Z. W. A. B. M. W. S., 2025. Association between lymphovascular invasion and lymph node metastases in colon cancer: A National Cancer Database analysis. *Colorectal Dis*, p. 27:e17256.
- Emil-Marian Popescu**, D.-A. P. D. A. C. T. B. D.-A. P., 2025a. Lymphovascular invasion in the evolution of colon cancer: a single center experience and analysis of the specialized literature. *Chirurgia (Bucur)*, March, p. Online Ahead of Print.
- Emil-Marian Popescu**, D.-A. P. D. A. C. T. B. D.-A. P., 2025c. Perineural invasion in the evolution of colon cancer: a single center experience and analysis of the specialized literature. *Chirurgia (Bucur)*, March, p. Online Ahead of Print.
- Emil-Marian Popescu**, D.-A. P. S. I. P. D. A. C. T. B. D.-A. P., 2025b. Early perianastomotic tumoral recurrence in a patient with sigmoid colon adenocarcinoma with perineural and lymphovascular invasion. *Chirurgia (Bucur)*, p. 120 (2):in press.
- Ferlay J, E. M. L. F. L. M. C. M. M. L. e. a., 2024. *International Agency for Research on Cancer*. [Interactiv]
Available at: <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/908-europe-fact-sheet.pdf> [Accesat 04 01 2025].
- Ferlay J, E. M. L. F. L. M. C. M. M. L. e. a., 2024. *International Agency for Research on Cancer*. [Interactiv]

Available at: <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/642-romania-fact-sheet.pdf> [Accesat 04 01 2025].

Ferroni P, F. V. D.-M. D. e. a., 2016. Prognostic value of glycated hemoglobin in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*, 22((45):9984-9993).

Fleming M, R. S. T. S. W. H., 2012. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *J Gastrointest Oncol*, pp. 3 (3):153-173.

G. Botiralieva, D. N. ., S. N., 2016. Assessment of lymph nodes for micrometastasis in high risk patients with colorectal cancer. *Ann Oncol*, Volumul 27.

Gao, Z. C. H. X. X. e. a., 2021. Prognostic value of lymphovascular invasion in stage II colorectal cancer patients with an inadequate examination of lymph nodes. *World J Surg Onc*, 19((1):125).

Georgiana B. Constantin, D. F. D. V. B. Ş. R. M. C. Ş. e. a., 2020. Emergency surgery for complicated colorectal cancer – What we choose: a retrospective cohort study. *Romanian Journal of Military Medicine*, 123((4):258-266).

Glover M, M. E. P. M. P. S. C. G., 2019. Epidemiology of Colorectal Cancer in Average Risk Adults 20-39 Years of Age: A Population-Based National Study. *Dig Dis Sci*, 64((12):3602-3609).

González-Flores, E. G.-C. R. É. E. e. a., 2025. Gender and sex differences in colorectal cancer screening, diagnosis and treatment. *Clin Transl Oncol* .

Goswami PR, S. G., 2023. Perineural Invasion (PNI) Definition, Histopathological Parameters of PNI in Oral Squamous Cell Carcinoma With Molecular Insight and Prognostic Significance. *Cureus*, 15((6):e40165).

Gram IT, P. S. W. L. H. C. L. M. L., 2020. Smoking-Related Risks of Colorectal Cancer by Anatomical Subsite and Sex. *Am J Epidemiol*, 189((6):543-553).

Hannan LM, J. E. T. M., 2009. The association between cigarette smoking and risk of colorectal cancer in a large prospective cohort from the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 18((12):3362-3367).

Harris EI, L. D. W. H. e. a., 2008. Lymphovascular invasion in colorectal cancer: an interobserver variability study. *Am J Surg Pathol*, 32(1(12):1816-1821).

HJ, F., 2008. Colorectal cancer risk in Crohn's disease. *World J Gastroenterol*, 14((12):1810-1811).

Hoorens, A., 2022. Detection and significance of micrometastases and isolated tumor cells in lymph nodes of colorectal cancer resections. *The Lymphatic System in Colorectal Cancer*, Issue 115-130.

H, Y., 2022. Micrometastasis in lymph nodes of colorectal cancer. *Ann Gastroenterol Surg*, 6((4):466-473).

Jasperson KW, T. T. N. D. B. R., 2010. Hereditary and Familial Colon Cancer. *Gastroenterology*, 138((6):2044-2058), pp. 2044-2058.

JG., B., 1985. Nerves and neurotropic carcinomas. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 94((4):426-427).

- John C. Taylor, D. B. L. H. I. R. J. B. P. J. F. M. M. I. P. Q. E. J. M., 2024. Minimally Invasive Surgery for Colorectal Cancer: Benchmarking Uptake for a Regional Improvement Programme. *Clinical Colorectal Cancer*, 23((4):382-391).
- Knij N, v. E. U. d. N. M. N. I., 2018. The value of intramural vascular invasion in colorectal cancer - a systematic review and meta-analysis. *Histopathology*, 72((5):721-728).
- L. Ludeman, N. S., 2006. Macroscopic assessment and dissection of colorectal cancer resection specimens. *Current Diagnostic Pathology*, 12((3):220-230).
- Lawler T, W. Z. S. M. e. a., 2023. Type 2 Diabetes and Colorectal Cancer Risk. *JAMA Netw Open*, 6((11):e2343333).
- Liebig C, A. G. W. J. B. D. A. D., 2009. Perineural Invasion in cancer: a review of the literature. *Cancer*, 115((15):3379-3391).
- Liebig C, A. G. W. J. V. G. L. H. A. N. B. D. A. D., 2009. Perineural invasion is an independent predictor of outcome in colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 27((31):5131-5137).
- Mandic M, L. H. S. F. N. T. H. M. B. H., 2024. Is the association of overweight and obesity with colorectal cancer underestimated? An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Eur J Epidemiol*, 38((2):135-144).
- MIM, I., 2023. Epidemiology of Stage IV Colorectal Cancer: Trends in the Incidence, Prevalence, Age Distribution, and Impact on Life Span. *Clin Colon Rectal Surg*, 37((2):57-61).
- Mohammad Zillur Rahman, M. S. A. S. R. A. S., 2024. Lymphovascular (LVI) and Perineural Invasion (PNI) in Colorectal Carcinoma and Their Association with Tumor Stages: A Retrospective Study on 250 Cases in Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University. *Fortune Journal of Health Sciences*, pp. (7):453-458.
- Monahan BV, P. T. P. J., 2023. Stage IV Colorectal Cancer at Initial Presentation versus Progression during and after Treatment, Differences in Management: Management Differences for Initial Presentation versus Progression of Disease after Initial Treatment. *Clin Colon Rectal Surg*, 7((2):108-113).
- Nozawa H, M. T. K. K. H. K. T. T. N. T. e. a., 2019. Obstruction is associated with perineural invasion in T3/T4 colon cancer. *Colorectal Dis*, pp. 21 (8):917-924.
- Omran, T. M. I. S. P. e. a., 2024. Selection of optimal extraction and RT-PCR protocols for stool RNA detection of colorectal cancer associated immune genes. *Sci Rep*, 14((1):27468).
- Otani K, K. K. H. K. T. T. N. T. S. K. e. a., 2019. Colon cancer with perforation. *Surg Today*, 49((1):15-20).
- Park SJ, L. K. K. S., 2008. Clinical significance of lymph node micrometastasis in stage I and II colon cancer. *Cancer Res Treat*, 40((2):75-80), pp. 75-80.
- Petrov Krasimir, I. I. P. S. B. T. K. Z., 2024. Colorectal Cancer: A Brief and Simplified Analysis of a Complex Disease. *Medicina*, p. (60):2034.
- Poeschl EM, P. M. K. P. L. R. S. A. R. P. e. a., 2010. Perineural invasion: correlation with aggressive phenotype and independent prognostic variable in both colon and rectum cancer. *J Clin Oncol*, pp. 28 (21):e358-60.

- Pop, C., 2009. Factorii de risc ai cancerului colorectal. *Revista Societății de Medicină Internă*, Volumul 6.
- Pouya Saeedi, I. P. P. S. B. M. S. K. N. U. e. a., 2019. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Research and Clinical Practice*, Issue 157:107843.
- Puppa G, S. A. C. R. P. G., 2010. TNM staging system of colorectal carcinoma: a critical appraisal of challenging issues. *Arch Pathol Lab Med*, 134((6):837-852).
- Qi Liu, Z. M. Q. C. H. Z. Y. G. T. L. e. a., 2022. Perineural invasion-associated biomarkers for tumor development. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 155(113691).
- Rawla P, S. T. B. A., 2019. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Prz Gastroenterol*, 14((2):89-103).
- Reina MA, B. A. T. R. Z. Y. F.-D. M. F. P. e. a., 2020. Another (Internal) Epineurium: Beyond the Anatomical Barriers of Nerves. *Clin Anat*, 33((2):199-206).
- Reina MA, L. A. V. M. d. A. J. L. G., 2000. Morphology of peripheral nerves, their sheaths and their vascularization. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*, 47((10):464-475).
- Rogers JE, J. B., 2021. The reality of early-onset colorectal cancer: highlighting the needs in a unique but emerging population. *Dig Med Res*, 4(63), p. (4):63.
- Roshandel G, G.-K. F. M. R., 2024. Colorectal Cancer: Epidemiology, Risk Factors, and Prevention. *Cancers (Basel)*, 16((8):1530).
- Ryan-Harshman M, A. W., 2007. Diet and colorectal cancer: Review of the evidence. *Can Fam Physician*, 53((11):1913-1920).
- Santos C, L.-D. A. N. M. M. J. B. S. M. V. M. e. a., 2013. Clinicopathological risk factors of Stage II colon cancer: results of a prospective study. *Colorectal Dis*, 15((4):414-422).
- Sawicki T, R. M. D. A. N. E. A. T. P. K., 2021. A Review of Colorectal Cancer in Terms of Epidemiology, Risk Factors, Development, Symptoms and Diagnosis. *Cancers (Basel)*, 13((9):2025).
- Schouten TJ, K. V. B. M. B. K. B. O. C. A. e. a., 2024. Perineural Invasion is an Important Prognostic Factor in Patients With Radically Resected (R0) and Node-negative (pN0) Pancreatic Cancer. *Ann Surg*.
- S, K., 2015. Perineurial glia. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 7((6):a020511).
- Stidham RW, H. P., 2018. Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease. *Clin Colon Rectal Surg*, 31((3):168-178).
- Ueno H, H. K. S. A. e. a., 2023. Optimal bowel resection margin in colon cancer surgery: prospective multicentre cohort study with lymph node and feeding artery mapping. *Lancet Reg Health West Pac*, 33(100680).
- Ueno H, N. I. Q. P. S. K. A. Y., 2023. Tumor deposits in colorectal cancer: Refining their definition in the TNM system. *Ann Gastroenterol Surg*, 7((2):225-235).
- V. Fedirko, I. T. V. B. M. R. L. S. F. I. e. a., 2011. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Annals of Oncology*, 22((9):1958-1972).

- Vakili M, A. A. P. A. S. M. S. A., 2014. The Survival Rate of Patients with Colorectal Cancer in Yazd during 2001-2011. *JSSU*, pp. 22 (3) :1187-1195.
- Vallis J, W. P., 2022. The Role of Diet and Lifestyle in Colorectal Cancer Incidence and Survival. *Gastrointestinal Cancers*.
- Wang X, C. Y. D. M. L. J. Z. X. L. H. F. R., 2021. Oncological and prognostic impact of lymphovascular invasion in Colorectal Cancer patients. *Int J Med Sci*, 18((7):1721-1729).
- Weiser, M., 2018. AJCC 8th Edition: Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol*, 01 11, 25((6):1454-1455).
- White A, I. L. S. R. O.-S. N. C. C. S. A., 2018. A review of sex-related differences in colorectal cancer incidence, screening uptake, routes to diagnosis, cancer stage and survival in the UK. *BMC Cancer*, Issue (1):906, p. 18 (1):906.
- Yu GH, L. S. W. R. J. Z., 2022. Diabetes and Colorectal Cancer Risk: Clinical and Therapeutic Implications. *J Diabetes Res*, Issue 2022:1747326.
- Zahir, R. K. T., 2024. Investigating the Relationship Between Perineural Invasion and Tumor Stage in Patients with Colorectal Adenocarcinoma in Shahid Sadoughi Hospital, , Yazd, 2014 - 2022. *J Inflamm Dis*, p. 28 (2):e156690.
- Zarbaliyev E, T. N. Ç. S. Ç. M., 2024. Lymphovascular invasion in colorectal cancers: can we predict it preoperatively?. *Ann Coloproctol*, pp. 40 (3):245-252.
- Zeng WG, Z. Z., 2014. Mini-invasive surgery for colorectal cancer. *Chin J Cancer*, 33((6):277-284).
- Ziani H, N. S. K. I. S. I., 2024. An unusual case of diastatic perforation of the transverse colon: Case report and literature review. *Radiol Case Rep*, 19((6):2434-2437).
- Zozaya, G. C. J. M.-C. P. e. a., 2023. Impact of perineural invasion on the outcome of patients with synchronous colorectal liver metastases treated with neoadjuvant chemotherapy and surgery. *Clin Transl Oncol*, p. (25) 2523–2531.