

# Mutacija gena KRAS i NRAS u desnostranom i lijevostranom karcinomu debelog crijeva pacijenata liječenih u KBC Split od 2014. do 2017. godine

---

**Babić, Marija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2017**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:509814>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-20**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Marija Babić**

**MUTACIJA GENA KRAS I NRAS U DESNOSTRANOM I LIJEVOSTRANOM  
KARCINOMU DEBELOG CRIJEVA PACIJENATA LIJEČENIH U KBC SPLIT OD  
2014. DO 2017. GODINE**

**Diplomski rad**

**Akademska godina 2016./2017.**

**Mentor:**

**izv.prof.dr.sc. Katarina Vilović, dr.med.**

**Split, srpanj 2017.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Marija Babić**

**MUTACIJA GENA KRAS I NRAS U DESNOSTRANOM I LIJEVOSTRANOM  
KARCINOMU DEBELOG CRIJEVA PACIJENATA LIJEČENIH U KBC SPLIT OD  
2014. DO 2017. GODINE**

**Diplomski rad**

**Akadska godina 2016./2017.**

**Mentor:**

**izv.prof.dr.sc. Katarina Vilović, dr.med.**

**Split, srpanj 2017.**

## SADRŽAJ

<b>1.</b>	<b>UVOD</b> .....	<b>1</b>
1.1.	Anatomija debelog crijeva .....	2
1.2.	Karcinom .....	4
1.2.1	Epidemiologija .....	4
1.2.2	Etiologija .....	4
1.2.3	Klinička slika .....	5
1.2.4	Histološka slika .....	6
1.2.5	Patohistološka klasifikacija .....	7
1.2.6	Prevenција .....	10
1.2.7	Dijagnostika .....	11
1.2.8	Terapijski postupak .....	12
1.2.9	Prognostički čimbenici .....	13
1.3.	Mutacija gena KRAS i NRAS .....	15
<b>2.</b>	<b>CILJ ISTRAŽIVANJA</b> .....	<b>16</b>
<b>3.</b>	<b>MATERIJALI I METODE</b> .....	<b>18</b>
3.1.	Ispitanici .....	19
3.2.	Organizacija istraživanja .....	19
3.3.	Mjesto studije .....	19
3.4.	Metode prikupljanja i obrade podataka .....	19
3.5.	Opis istraživanja .....	19
<b>4.</b>	<b>REZULTATI</b> .....	<b>21</b>
<b>5.</b>	<b>RASPRAVA</b> .....	<b>27</b>
<b>6.</b>	<b>ZAKLJUČCI</b> .....	<b>30</b>
<b>7.</b>	<b>POPIS CITIRANE LITERATURE</b> .....	<b>32</b>
<b>8.</b>	<b>SAŽETAK</b> .....	<b>38</b>
<b>9.</b>	<b>SUMMARY</b> .....	<b>41</b>
<b>10.</b>	<b>ŽIVOTOPIS</b> .....	<b>43</b>

## **ZAHVALA**

*Zahvaljujem se svojoj mentorici, prof.dr.sc. Katarini Vilović, na posvećenom vremenu, pristupačnosti i stručnim savjetima tijekom pisanja ovog diplomskog rada. Hvala Vam na nesebičnoj podršci i savjetima tokom cijelog studija kojima ste me navodili na pravi put. Posebnu zahvalu upućujem i svojoj obitelji koja mi je pružila bezuvjetnu potporu tijekom svih ovih godina.*

*Na kraju zahvaljujem prijateljici Jeleni Lukić na podršci te pomoći prilikom izrade statistike za ovaj rad.*

## **1. UVOD**

## 1.1 ANATOMIJA DEBELOG CRIJEVA

Debelo crijevo (lat. *intestinum crassum*) započinje od ilealnog ušća, a proteže se do analnog otvora. Sastoji se od četiri dijela: slijepo crijevo (lat. *caecum*), obodno crijevo (lat. *colon*), ravno crijevo (lat. *rectum*) i analni kanal (lat. *canalis analis*). Duljina debelog crijeva je oko 1,6 m. Najduži dio čini kolon koji ima četiri dijela koja se nastavljaju jedan na drugi u obliku luka: uzlazni (lat. *colon ascendens*), transverzalni (lat. *colon transversus*), silazni (lat. *colon descendens*) i sigmoidni (lat. *colon sigmoideum*) (1).

Slijepo crijevo je početni dio debelog crijeva, nalazi se u desnoj bočnoj udubini. Prema uzlaznom crijevu zavijen je pod kutom od otprilike 90°. Uloga ilealnog ušća je da sprječava povratak crijevnog sadržaja iz debelog u tanko crijevo, a nalazi se na ulasku tankog u debelo crijevo. Na dnu slijepog crijeva nalazi se crvuljak (lat. *appendix vermiformis*) (1).

Desnom stranom trbušne šupljine od slijepog crijeva do desnog režnja jetre proteže se uzlazni kolon. Uže je nego slijepo crijevo. Sekundarno je smješteno retroperitonealno (2).

Transverzalni kolon je najduži i najpokretljiviji dio debelog crijeva. Proteže se kroz abdomen od desnog zavoja, *flexura coli dextra*, do lijevog, *flexura coli sinistra* gdje se savija prema dolje i prelazi u silazni kolon. S obzirom na to da je pokretljivo, smještaj transverzalnog kolona je varijabilan te obično visi do razine pupka. Ipak, kod visokih, mršavih ljudi transverzalni kolon može dosezati zdjelicu. Splenična fleksura, *flexura coli sinistra*, obično je smještena superiornije, oštija je i manje mobilna nego desna *flexura coli*. Silazni kolon sekundarno zauzima retroperitonealni smještaj između lijeve fleksure i lijeve ilijačne udubine, gdje se nastavlja u sigmoidni kolon (2).

Sigmoidni kolon karakterizira petlja S oblika i varijabilne dužine. Proteže se od ilijačne udubine do trećeg križnog kralješka (S3), gdje se nastavlja u rektum. Obično ima dugački mezenterij, pa je relativno pokretno, osobito u središnjem dijelu (1).

Početak rektuma nalazi prednjoj strani trećega križnog kralješka. Distalnu granicu čini puborektalni prsten koji palpiramo prilikom digitorektalnog pregleda (1).

Ileokolične arterije (lat. *a. ileocolica*), desne količne (lat. *a. colica dextra*) i srednje količne arterije (lat. *a. colica media*), ogranci gornje mezenterične arterije (lat. *a. mesenterica superior*), krvlju opskrbljuju cekum, ascendentni kolon i proksimalni dio transverzalnog kolona. Lijeve količne (lat. *a. colica sinistra*) i sigmoidalne arterije (lat. *aa. sigmoideae*), ogranci donje mezenterične arterije (lat. *a. mesenterica inferior*), opskrbljuju distalni transverzalni kolon, spleničnu fleksuru, descendentni i sigmoidni kolon. Anastomoza između srednje i lijeve količne arterije zove se Riolanov luk. Od donje mezenterične arterije odvaja se

gornja rektalna arterija (lat. *a. rectalis superior*) koja arterijskom krvlju opskrbljuje gornji dio rektuma. Srednje (lat. *aa. rectales mediae*) i donje rektalne arterije (lat. *aa. rectales inferiores*), ogranci unutrašnje ilijačne arterije (lat. *a. iliaca interna*), prokrvljuju srednju i donju trećinu rektuma. Sve arterije nedaleko od crijeva međusobno anastomoziraju. Vene kolona prate odgovarajuće arterije i ulijevaju se u venu porte (3). Gornje, srednje i donje rektalne vene (lat. *vv. rectales superiores, mediae et inferiores*) dreniraju vensku krv iz rektuma. Nastaju iz unutrašnjeg i vanjskog venskog spleta rektuma (lat. *plexus rectales*) te međusobno anastomoziraju. Gornji dio vanjskog venskog spleta se izliva u gornju rektalnu venu koja je korijen portalne vene. Srednji i donji dio se izliva u srednju i donju rektalnu venu koje su korijenovi unutrašnje ilijačne i pudendalne vene te pripadaju sistemskoj venskoj cirkulaciji (1).

Inervacija debelog crijeva je autonomna, simpatička i parasimpatička. Parasimpatikus potiče, a simpatikus inhibira peristaltiku (1).

U submukozi i subserozi crijevne stijenke nalazi se bogata limfna mreža odakle se limfa drenira ekstramuralnim putovima u epikolične, parakolične, intermedijalne (uz velike krvne žile) i glavne limfne čvorove (uz gornju i donju mezenteričnu arteriju). Limfa iz kolona i gornje dvije trećine rektuma se drenira u paraaortalne limfne čvorove odakle se prazni u cisternu (lat. *cisterna hili*). Limfa iz donje trećine rektuma i analnoga kanala može se drenirati prema gore u paraaortalne, ali i lateralno uz unutrašnje ilijačne arterije, prema ingvinalnim limfnim čvorovima (1).

Desni i lijevi segmenti debelog crijeva su različitog embriološkog podrijetla. Segment koji se proteže od cekuma do proksimalne dvije trećine poprečnog kolona nastaje iz srednjeg crijeva koje dobiva krvnu opskrbu od gornje mezenterične arterije. Segment koji započinje od distalne trećine poprečnog kolona do gornjeg analnog kanala nastaje iz stražnjeg crijeva koje dobiva krvnu opskrbu od donje mezenterične arterije. S obzirom na tu podjelu, desnostrani karcinomi debelog crijeva su karcinomi cekuma, uzlaznog kolona, desne količne fleksure i proksimalne dvije trećine poprečnog kolona, a lijevostrani su karcinomi lijeve količne fleksure, distalne trećine poprečnog kolona, silaznog kolona, sigmoidnog kolona i rektuma (4, 5).



## 1.2 KARCINOM DEBELOG CRIJEVA

### 1.2.1 Epidemiologija

Karcinom debelog crijeva jedan je od najčešćih tumora na kojeg otpada 9,7% svih zloćudnih bolesti. Treći je po učestalosti u muškaraca (10% od ukupnog broja), iza raka pluća i prostate, te drugi u žena (9,2% od ukupnog broja), iza raka dojke. Stopa incidencije primarnih tumora debelog crijeva u 2012. godini u svijetu bila je 17,2/100 000 stanovnika (muškarci 20,6/100 000 stanovnika, a žene 14,3/100 000 stanovnika) (6).

Karcinom debelog crijeva čini 90% malignih tumora debelog crijeva, a njegova učestalost je u stalnom porastu (7). Najviše karcinoma debelog crijeva se dijagnosticira u dobi od 65. do 74. godine, dok je smrtnost najviša u dobi od 75. do 84. godine (8).

Gotovo 55% slučajeva javlja se u razvijenijim područjima. Zemljopisna varijacija pojavljivanja širom svijeta je široka, a zemljopisni obrasci muškaraca i žena vrlo su slični. Najviša procijenjena stopa incidencije je u Australiji/Novom Zelandu (ASR, eng. *Age standardised rate* 44,8 i 32,2 na 100.000 u muškaraca i žena), a najmanji u zapadnoj Africi (4,5 i 3,8 na 100 000) (9). Ako populacija migrira iz regije s manjim rizikom u onu s većim (npr. u Europljana koji su nakon II. svjetskog rata emigrirali u Australiju) njezin rizik oboljenja od tumora debelog crijeva se povećava (10).

U Hrvatskoj su stope incidencije i mortaliteta od tumora debelog crijeva slične srednjim vrijednostima razvijenog svijeta i u stalnom su porastu. Broj novih slučajeva prati se u Registru za rak Republike Hrvatske koji se vodi pri Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo. Broj novodijagnosticiranih u 2014. godini je 21 434 pri čemu je odnos muškaraca naspram žena 53:47. Drugi je po učestalosti kod muškaraca (17% svih tumora), iza raka pluća, i drugi u žena (12% svih tumora), iza raka dojke. Većina tumora dijagnosticira se od 70. do 74. godine (11).

### 1.2.2 Etiologija

Novija istraživanja pokazuju da je uzrok nastanka karcinoma debelog crijeva multifaktorijalan. Karcinom debelog crijeva je rijedak prije četrdesete godine života. Incidencija polako raste nakon pedesete godine, sa svakim daljnjim desetljećem rizik se povećava, te vršak incidencije doseže u dobi oko sedamdeset i pet godina (7).

Način života i vrsta prehrane važan su rizični čimbenik za nastanak karcinoma debelog crijeva. Prehrana bogata ukupnim i zasićenim masnim kiselinama te povećana energijska vrijednost hrane, smanjena tjelesna aktivnost i sjedilački način života (12), crveno meso i

alkohol (13) povećavaju rizik nastanka karcinoma debelog crijeva. Važnu ulogu u smanjenju rizika imaju vlakna jer povećavaju volumen stolice što ubrzava pražnjenje crijeva i skraćuje kontaktno vrijeme potencijalnih karcinogena u crijevnom sadržaju sa crijevnom sluznicom. Zaštitnu ulogu imaju: vitamini A, C i E, selen, aspirin te oralna kontracepcija (14). U Dalmaciji je uočljiv porast novooboljelih. Istraživanja su pokazala da uzrok tome nije samo bolja dijagnostika već i djelovanje rizičnih čimbenika. Stanovnici manje konzumiraju ribu, voće i povrće u svojoj prehrani pa su im vrijednosti kolesterola i ukupnih masnoća među najvišima u Hrvatskoj (10).

U patogenezi ove bolesti još uvijek vrijedi pravilo da većina kolorektalnih karcinoma nastaje iz adenoma – tzv. *adenomsko - karcinomski slijed*. Juvenilni polipi, hamartomi i upalni polipi nemaju maligni potencijal i potrebno ih je razlikovati od adenoma koji su potencijalno premaligne lezije. U 80% slučajeva karcinom debelog crijeva nastane u adenomatoznom polipu (3). Nasljedni karcinomi debelog crijeva mogu se naći u 5% bolesnika. Dva glavna tipa su sindrom obiteljske adenomatozne polipoze (FAP – engl. *familial adenomatous polyposis*) i nasljedni nopolipozni rak debelog crijeva (HNPCC – engl. *hereditary nonpolyposis colorectal cancer*) (15). Crohnova bolest, a pogotovo ulcerozni kolitis povećavaju rizik nastanka karcinoma debelog crijeva (16). Znatno veći rizik (najmanje tri puta) od razvoja novog, tzv. metakronog karcinoma debelog crijeva, imaju osobe kojima je operiran karcinom debelog crijeva (7).

### **1.2.3 Klinička slika**

Karcinom debelog crijeva raste polagano. Jedan od najčešćih prvih znakova bolesti je hipokromna, mikrocitna anemija kao posljedica okultnog krvarenja. Anemija se može prezentirati kao malaksalost, dispneja u naporu i anginozna bol. Nalaz hipokromne mikrocitne anemije kod muškarca starijeg od 40 godina treba pobuditi sumnju na tumor debelog crijeva (10). U žena ponavljane trudnoće, menstrualni gubitak krvi ili nepravilno maternično krvarenje mogu biti podloga za anemiju pa je kod njih simptomatologija manje jasna (7).

Simptomi tumora debelog crijeva ovise o njegovoj lokalizaciji duž debelog crijeva. Karakteristike tumora lokaliziranog u proksimalnom dijelu desnog crijeva su: stolica boje trule višnje, kasna pojava simptoma, rijetko dovodi do opstrukcije, a češće se može palpirati tumorska masa. Opstrukcija Bauchinijeve valvule dovest će do opstrukcije distalnog dijela tankog crijeva. Od pojave prvih simptoma do postavljanja dijagnoze prođe u prosjeku 1 – 2 godine.

Ljevostrana lokalizacija tumora debelog crijeva znatno brže dovodi do opstrukcije jer je lumen tog dijela crijeva uži, stolica je kompaktnija, a tumor obično dodatno sužava lumen jer prstenasto zahvaća stjenku. Zrak koji se nakuplja u crijevima, pogotovo nakon jela, dilatira crijevo proksimalno od tumora te izaziva bol. Ritam je stolice poremećen. Zatvor se izmjenjuje s proljevom, a zaostala stolica može izazvati opstrukciju. Hematokezija s pojavom svježe krvi koja oblaže stolicu također upozorava na ljevostranu lokalizaciju tumora, pogotovo na područje sigmoidnog kolona i rektuma. Krv je u stolici to svjetlija što je tumor bliže kraju debelog crijeva. Perinealna i sakralna bol može se pojaviti ako se tumor debelog crijeva proširio i zahvatio mokraćni mjehur, rodničnu stijenu ili okolne živce.

Simptomi kod tumora debelog crijeva često se mogu zamijeniti s drugom bolešću, kao što su divertikulitis, iritabilni kolon te upala hemeroidnih čvorova (10). Gubitak tjelesne težine i povišena temperatura uz izraženu slabost i malaksalost obično su znakovi uznapredovale bolesti. U oko 25 do 30 % bolesnika u razdoblju postavljanja dijagnoze bolest je uznapredovala i ne može se riješiti kirurškim zahvatom (7). Najčešća mjesta metastaza su jetra (70%) i prsni koš (32% karcinoma kolona i 47% karcinoma rektuma) dok je na trećem mjestu u karcinomu kolona peritonej (21%), a kod rektuma kost (12%) (17). Metastatski tumor ne uzrokuje uvijek simptome, međutim kad se pojave njihova priroda i učestalost ovisit će o veličini i mjestu metastazirajućih tumora. Žutica ili oteklina javljaju se kada se tumor proširio na jetru, a kratkoća daha ukoliko se proširio na pluća. Ako se tumor proširio na kost, najčešći simptomi su bol i prijelomi (18). U hitnoći se pod slikom opstrukcije ili peritonitisa operira 20-ak% bolesnika (10).

#### **1.2.4 Histološka slika**

Prema histološkoj slici u više od 90% oboljelih riječ je o adenokarcinomu (Slika 1) različitog stupnja zrelosti žlijezda i s različitom sposobnošću lučenja mucina (19). Mucin je visokomolekularni glikoprotein, koji se nalazi u vakuolama stanične citoplazme i staničnu jezgru potiskuje rubno, formirajući tipičnu sliku stanice poput prstena pečatnjaka (7). Mucinozni adenokarcinom je tip adenokarcinoma u kojoj su tumorske stanice okružene obiljem izvanstaničnog mucina u više od 50% volumena tumora.

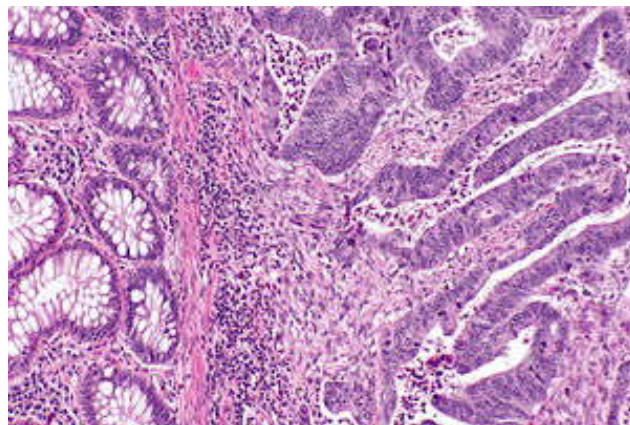
Prema stupnju diferencijacije adenokarcinom može biti:

1. dobro diferenciran (> 95% tumora čini žljezdane komponente),
2. umjereno diferenciran (50 – 95% žljezdane komponente),
3. slabo diferenciran (< 50% žljezdane komponente).

U praksi, većina kolorektalnih adenokarcinoma (~ 70%) su umjereno diferencirani. Dobro i slabo diferencirani adenokarcinomi čine 10% i 20%. Ostali tumori debelog crijeva su karcinoid, leomiosarkom ili limfom (20).

U mikroskopskom pregledu bitno je tražiti dokaze invazije tumorskih stanica uz prisutnost dezmozoplazije (tip fibrozne proliferacije koja okružuje tumorske stanice nakon invazivnog rasta tumora) te često prisutnu karakterističnu nekrozu, tzv. prljava nekroza. Pronalazak prljave nekroze u mikroskopskom pregledu metastaze nepoznatog podrijetla treba pobuditi sumnju na primarni karcinom debelog crijeva (19).

Svi adenokarcinomi debelog crijeva se šire izravno kroz crijevnu stijenku u okolne strukture te metastatski kroz limfne i krvne žile. Tumor se u početku širi u limfne čvorove, a poslije se može proširiti izravno po peritoneju (karcinomatoza peritoneuma) te putem portalne vene u jetru, dok se nisko smješteni rektalni karcinomi šire najprije u pluća putem donje šuplje vene, a poslije može doći do metastatskog rasapa u druge organe tijela (7).



Slika 1. Adenokarcinom debelog crijeva

(preuzeto s: [https://librepathology.org/wiki/Colorectal\\_adenocarcinoma](https://librepathology.org/wiki/Colorectal_adenocarcinoma) )

### 1.2.5 Patohistološka klasifikacija

Proširenost adenokarcinoma u vrijeme dijagnoze ključni je čimbenik koji se koristi za definiranje liječenja i procjenu mogućnosti uspješnog liječenja. Sustavi za klasifikaciju karcinoma kodificiraju proširenost bolesti kako bi kliničarima i pacijentima omogućili lakše kvantificiranje prognoze, standardizirano liječenje u cijelom svijetu i usporedbu skupina pacijenata u kliničkim ispitivanjima. Najčešće korišteni sustav kliničkog stadija bolesti je TNM sustav. Ovaj sustav definira opseg primarnog tumora (T), zahvaćenost regionalnih limfnih čvorova (N) i pojavu udaljenih metastaza (M). Najnovije TNM smjernice objavljuje

American Joint Committee on Cancer (AJCC) čija je zadnja revizija kao osmo izdanje, dostupno od studenog 2016. godine i prikazano je u Tablici 1 (2, 21).

Tablica 1. TNM klasifikacija

TNM klasifikacija					
T – primarni tumor		N – limfni čvorovi		M - presadnice	
<b>Tx</b>	primarni tumor se ne može odrediti	<b>NX</b>	zahvaćenost limfnih čvorova ne može se odrediti	<b>M0</b>	bez udaljenih metastaza
<b>T0</b>	nema dokaza o postojanju primarnog tumora	<b>N0</b>	u regionalnim limfnim čvorovima nema presadnica	<b>M1</b>	prisutne udaljene metastaze
<b>Tis</b>	karcinom in situ	<b>N1</b>	presadnice u 1-3 regionalna limfna čvora	<b>M1a</b>	prisutne metastaze jedne strane ili jednog organa bez metastaziranja u peritonej
<b>T1</b>	tumor invadira submukozu	<b>N1a</b>	presadnice u 1 regionalnom limfnom čvoru	<b>M1b</b>	prisutne metastaze dva ili više mjesta ili organa bez metastaziranja u peritonej
<b>T2</b>	tumor invadira mišićni sloj	<b>N1b</b>	presadnice u 2-3 regionalna limfna čvora	<b>M1c</b>	metastaziranje u peritonej bez zahvaćanja drugih mjesta ili organa
<b>T3</b>	tumor invadira kroz mišićni sloj u neperitonealno perikolično ili perirektalno tkivo	<b>N1c</b>	Nisu zahvaćeni limfni čvorovi, ali tumorski depoziti su prisutni u subserozi, mezenteriju ili neperitoniziranom perikoličnom/ perirektalnom/ mezorektalnom tkivu		
<b>T4</b>	tumor perforira visceralni peritonej ili izravno invadira ostale organe ili strukture	<b>N2</b>	presadnice u 4 i više regionalnih limfnih čvorova		
<b>T4a</b>	tumor perforira visceralni peritonej	<b>N2a</b>	presadnice u 4-6 regionalna limfna čvora		
<b>T4b</b>	tumor izravno invadira ostale organe ili strukture	<b>N2b</b>	presadnice u 7 i više regionalnih limfnih čvorova		

Patološka TNM klasifikacija (pTNM) temelji se na pregledu resecciranog tkiva uključujući najmanje 12 limfnih čvorova ukoliko je riječ o operacijskom zahvatu, a ako je riječ o palijativnom zahvatu ili preoperativnoj radioterapiji i kemoterapiji može ih biti i manje (22). Uz napomenu da stadij N1c obuhvaća tumorske depozite tumora tj. diskretni tumorski čvor unutar područja limfne drenaže primarnog karcinoma bez zahvaćanja tkiva limfnog čvora, vaskularne ili neuralne strukture. Istraživanje prema kojem 10% primarnih karcinoma debelog crijeva ima tumorske depozite, a 2,5% karcinoma kolona te 3,2% karcinoma rektuma ima tumorske depozite iako je histološki nalaz limfnih čvorova bio uredan, ukazuje na značajnu ulogu N1c kao negativnog prognostičkog čimbenika (29). U najnovijoj TNM klasifikaciji bolesnici kod kojih je dijagnosticirana peritonealna karcinomatosa izdvojeni su u skupinu M1c zbog dokazano lošijeg preživljenja (30).

Patohistološki pregled tumora i limfnih čvorova najčešće se definira klasifikacijom po Dukesu i modificiranom klasifikacijom po Astler Colleru.

Klasifikacija po Dukesu:

- A tumor ograničen na stjenku crijeva,
- B tumor invadira masno tkivo,
- C metastaze u regionalnim limfnim čvorovima.

Modificirana klasifikacija po Astler Colleru:

- A tumor invadira submukozu,
- B1 tumor invadira mišićni sloj,
- B2 tumor invadira masno tkivo, okolni organi nisu zahvaćeni,
- B3 tumor zahvaća okolne organe,
- C1 dubina odgovara B1 stadiju, metastaze prisutne u regionalnim limfnim čvorovima,
- C2 dubina odgovara B2 stadiju, metastaze prisutne u regionalnim limfnim čvorovima,
- C3 dubina odgovara B3 stadiju, metastaze prisutne u regionalnim limfnim čvorovima (23, 24).

Svakom TNM stadiju pridružen je stadij bolesti s obzirom na koji se određuje terapija i prognoza bolesti (Tablica 2) (2).

Tablica 2. AJCC prognostički stadij

AJCC prognostičke grupe stadija					
STADIJ	T	N	M	Dukes	MAC
<b>0</b>	Tis	N0	M0	/	/
<b>I</b>	T1,T2	N0	M0	A	A/B1
<b>IIA</b>	T3	N0	M0	B	B2
<b>IIB</b>	T4a	N0	M0	B	B2
<b>IIC</b>	T4b	N0	M0	B	B3
<b>IIIA</b>	T1,T2	N1/N1c	M0	C	C1
<b>IIIA</b>	T1	N2a	M0	C	C1
<b>IIIB</b>	T3-T4a	N1/N1c	M0	C	C2
<b>IIIB</b>	T2-T3	N2a	M0	C	C1/C2
<b>IIIB</b>	T1-T2	N2b	M0	C	C1
<b>IIIC</b>	T4a	N2a	M0	C	C2
<b>IIIC</b>	T3-T4	N2b	M0	C	C2
<b>IIIC</b>	T4b	N1-N2	M0	C	C3
<b>IVA</b>	Bilo koji T	Bilo koji N	M1a	/	/
<b>IVB</b>	Bilo koji T	Bilo koji N	M1b	/	/
<b>IVC</b>	Bilo koji T	Bilo koji N	M1c	/	/

Stadiju 0 odgovara tumor *in situ* tj. stadiju Tis TNM klasifikacije. Tis se razlikuje u debelom crijevu u odnosu na ostatak gastrointestinalnog sustava, a definiran je kao invazija lamine proprije bez prodora kroz muskularnu laminu mukoze. Ne smatra se invazivnim jer nema rizik pojave metastaza. Tumor je invazivan ukoliko invadira submukozu (25, 26).

Petogodišnje preživljenje u bolesnika sa stadijem I je > 90%, stadijem II 70-80%, stadijem III 40-60% te 20-40% u bolesnika s resektabilnim jetrenim ili plućnim presadnicama nakon operacije i primjene kemoterapije ili kemoimunoterapije. U bolesnika s inoperabilnim metastatskim karcinomom debelog crijeva srednje preživljenje iznosi oko 20 mjeseci (20).

### 1.2.6 Prevencija

Primarna prevencija adenokarcinoma debelog crijeva uključuje prepoznavanje i uklanjanje okolišnih i metaboličkih karcinogena, kao i medicinski nadzor nad genskim čimbenicima. Metode primarne prevencije još nisu dovoljno razrađene. Sekundarna prevencija uključuje otkrivanje preneoplastičnih i ranih neoplastičnih oblika adenokarcinoma debelog crijeva u asimptomatskoj ili ranoj simptomatskoj fazi s ciljem povećavanja mogućnosti izlječenja, preživljavanja i kvalitete života (10).

Primjer sekundarne prevencije koji se povodi se u Republici Hrvatskoj je Nacionalni program ranog otkrivanja raka debelog crijeva. Kao metode ranog otkrivanja karcinoma debelog crijeva primjenjuju se različite metode kao što su testovi okultnog fekalnog krvarenja, proktosigmoidoskopski i kolonoskopski pregled, irigografija s dvostrukim kontrastom te određivanje tumorskih markera. U Republici Hrvatskoj po preporuci Europskog i Svjetskog društva za gastrointestinalnu endoskopiju kod osoba iznad 50 godina sa prosječnim rizikom savjetuje se popunjavanje anketnog upitnika i testiranje na okultno krvarenje svako dvije godine. U osoba povišenog i visokog rizika za razvoj karcinoma debelog crijeva kao što je osobna anamneza kolorektalnog adenoma ili raka, ulcerozni kolitis, Morbus Crohn, obiteljska anamneza polipoznih sindroma (FAP, Gardnerov, Turcotov, Peutz-Jeghersov sindrom, familijarna juvenilna polipoza), nepolipozni rak kolona, rođak u prvom koljenu s kolorektalnim rakom, potrebno je program ranog otkrivanja raka debelog crijeva započeti u ranijoj dobi (31).

Test kojim se otkriva krv u stolici (FBOT – engl. *fecal occult blood test*) jednostavan je test kojim se mogu otkriti male količine krvi koje se ne vide pregledom stolice. Pacijent dobije dijagnostički *kit* s uputama. Test se izvodi kod kuće. U *kitu* se nalazi četkica s kojom se prebriše površina stolice. Taj uzorak se nanese na za to predviđeni prozorčić na kontrolnoj traci. Kako se ne bi propustila zloćudna bolest svako krvarenje iz debelog crijeva se smatra

karcinomom dok se ne dokaže suprotno (32, 33). Ako je test na okultno fekalno krvarenje pozitivan ispitanika treba uputiti na kolonoskopski pregled da bi se otkrio razlog krvarenja te ukoliko je potrebno istovremeno uzeo bioptički uzorak endoskopskom terapijom – polipektomijom. Budući da je senzitivnost testa oko 50%, negativan test ne znači potpunu sigurnost da osoba ne boluje od polipa ili raka debelog crijeva. Na to treba upozoriti osobe čiji test na okultno fekalno krvarenje je negativan. Specifičnost testa za karcinom debelog crijeva je 98%, dok je prediktivna vrijednost pozitivnog testa na okultno fekalno krvarenje manja u otkrivanju raka debelog crijeva (5-10%) u odnosu na adenome (20-30%) (31).

### **1.2.7 Dijagnostika**

Dijagnostika adenokarcinoma debelog crijeva započinje uzimanjem anamneze i fizikalnim pregledom bolesnika. Potrebno je dobiti podatke o čimbenicima rizika (npr. obiteljska anamneza polipoznih sindroma) i simptomima koji ukazuju na tumor debelog crijeva. Veliko značenje imaju podaci o gubitku tjelesne težine i promjenama stolice (20, 34). Digitorektalni pregled je obvezni dio fizikalnog pregleda jer je većina rektalnih karcinoma lokalizirana u donjoj trećini rektuma i lako su pristupačni kod digitorektalnog pregleda. Liječnik uvodi kažiprst u otvor debelog crijeva te provjerava prisutnost abnormalnog tkiva, nepravilnosti i prisutnosti krvi u stolici (32).

Laboratorijske pretrage mogu otkriti anemiju ili žuticu koje liječnika mogu uputiti na provođenje dodatnih pretraga s ciljem otkrivanja bolesti. U krvi je moguće detektirati i tumorske markere poput CEA i CA 19-9. U bolesnika s postavljenom dijagnozom koji su već na terapiji, promjene nivoa tih biljega mogu upućivati na regresiju ili progresiju bolesti (7).

Od endoskopskih metoda primjenjuje se rektoskopija za pregled završnog dijela debelog crijeva s krutom ili fleksibilnom optičkom cijevi (34). Metode izbora za izravnu procjenu rektalnog tumora jesu rektoskopija i sigmoidoskopija s mogućnošću određivanja veličine, proširenosti, fiksacije, udaljenosti od analnog ruba i biopsije sumnjivih promjena sluznice (20). Tom je metodom moguće uzeti uzorak (komadić crijevne sluznice) za analizu te odstraniti patološke izrasline – polipe. Gotovo polovica svih polipa debelog crijeva nalazi se u tom području (34).

Kolonoskopija je endoskopska metoda na temelju koje se uz pomoć fleksibilne optičke cijevi najobjektivnije postavlja dijagnoza. Omogućuje uzimanje bioptičkog uzorka i postavljanje točne patohistološke dijagnoze, a od presudnog je značenja za izbor kirurškog postupka. Osim toga kolonoskopija daje direktan uvid u cijeli kolon i može otkriti sinkroni karcinom koji se nađu u gotovo 50% slučajeva karcinoma debelog crijeva (10). Prilikom



pretrage mogu se odstraniti polipi tako da je ona ujedno i terapijska metoda. Ako tumorska masa sprječava pregled cijelog crijeva, kolonoskopija se ponavlja nakon operacije (32). Virtualna kolonoskopija koja koristi CT (CT kolonografija) i MR (magnetska rezonancija) trenutno se istražuje kako bi se utvrdila njena svojstva u odnosu na postojeće metode. Tijekom pretrage upuhuje se zrak u crijeva kako bi se ona proširila te se nakon toga rade snimke (32).

Kod 5-10% bolesnika kolonoskopijom se ne može otkriti tumor zbog tehničkih razloga (presavijeno crijevo, loša priprema bolesnika) pa se u tom slučaju može uraditi rendgenska pretraga pomoću barijeve kaše (32). Irigografija je vrsta rendgenske pretrage kojom se omogućuje pregled debelog crijeva u cijelosti aplikacijom kontrastnog sredstva - barijeve kaše. U završno crijevo umeće se tanka cjevčica putem koje se unosi kontrastno sredstvo i zrak kako bi se ustanovile moguće nepravilnosti u ispunjenosti crijevnih šupljina, tj. otkrile neuobičajene izrasline ili polipi (34).

Transrektalnim ultrazvukom i MR-om/CT-om se koristimo ukoliko želimo procijeniti dubinu prodora u crijevnu stjenku i u regionalne limfne čvorove. Za procjenu proširenosti bolesti prije operacije radi se CT cijelog abdomena, rtg-prikaz pluća i određivanje razine tumorskog biljega CEA u krvi. Poslijeoperacijska razina CEA u krvi daje uvid u daljnje napredovanje bolesti i rano otkrivanje recidiva (20).

### **1.2.8 Terapijski postupak**

O izboru najprikladnije terapije odlučuje ponajprije stupanj proširenosti bolesti. Karcinom debelog crijeva širi se lokalnom invazijom, limfnim, hematogenim i transperitonealnim putem. Kirurško je liječenje i danas prva metoda izbora u terapiji karcinoma debelog crijeva. Kirurški zahvat uvjetovan je karakteristikama tumora (veličina, invazija, mjesto i proširenost bolesti), anatomijom krvnih žila debelog crijeva te općim stanjem bolesnika. Nije dovoljno samo odstraniti crijevni segment zahvaćen tumorom već i regionalne limfne čvorove drenažnog područja zahvaćenog dijela crijeva zajedno s pripadajućim krvnim žilama uz napomenu da resekcijska granica za kolon mora biti najmanje 5 cm, a za rektum 2 cm od makroskopske granice tumora. Vrstu kirurškog zahvata određuje smještaj tumora te se tako izvodi desna hemikolektomija ukoliko je riječ o cekumu i ascendentnom kolonu, resekcija transverzalnog kolona za tumore središnjeg dijela transverzalnog kolona, lijeva hemikolektomija za tumore lijevalne fleksure, descendentnog kolona i oralnog dijela sigmoidnog kolona, prednja resekcija rektuma ako je tumor smješten u aboralnom dijelu sigmoidnog kolona i rektuma. U liječenju karcinoma rektuma metoda izbora

je kirurško liječenje. Tumori lokalizirani u gornjem dijelu rektuma operiraju se abdominalnim putem uz očuvanje analnog kanala i sfinktera (mezorektalna resekcija), a kontinuitet se uspostavlja terminoterminalnom anastomozom. Ukoliko je lokalizacija tumora u donjem dijelu rektuma, dijelu sigmoidnog kolona, analnog ruba i sfinktera na prednjoj se trbušnoj stijenci formira *anus praeter* (3).

Zračenje se ne indicira u svim stadijima karcinoma debelog crijeva i rektuma. U bolesnika u II stadiju bolesti gdje postoji visok rizik ponovne pojave bolesti ili kod onih u III stadiju može se koristiti adjuvantna kemoterapija ili adjuvantno zračenje u kombinaciji s kemoterapijom. Zračenje u kombinaciji s kemoterapijom može se koristiti i palijativno s ciljem ublažavanja simptoma bolesti. Kombinacija folne kiseline (leukovorina) i 5-FU, poznata kao Mayo protokol, jedna je od mogućnosti kemoterapije karcinoma debelog crijeva. Osim Mayo protokola mogu se koristiti oksaliplatin i irinotekan. U IV stadiju bolesti (metastatski stadij) potrebno je bolesnike selekcionirati na one s resektabilnom, potencijalno resektabilom i neresektabilnom metastatskom bolesti. Operiraju se isključivo jetrene metastaze i/ili plućne metastaze. Noviji oblik terapije je biološka terapija, zasada najpoznatiji bevacizumab (anti-VEGF, eng. *Vascular endothelial growth factor*) i cetuximab (anti-EGFR, eng. *Epidermal growth factor receptor*) (20).

Odgovor na terapiju ovisi o mutacijama, kao na primjer aktivacija RAS-a koja predviđa loš odgovor na terapiju monoklonalnim anti-EGFR protutijelima i mikrosatelitska nestabilnost kod terapije 5-FU (35, 36).

### **1.2.9 Prognostički čimbenici**

Najvažniji prognostički čimbenik kod adenokarcinoma debelog crijeva jest proširenost tumora u vrijeme postavljanja dijagnoze, te je zbog toga potrebno odrediti točan stadij tumora prema TNM sustavu (7). Međutim, prije donošenja konačne odluke o terapiji potrebno je razmotriti još neke čimbenike za koje postoji dokaz da utječu na ishod terapije (2).

Karcinoembrijski antigen (CEA) jedan je od najpoznatijih tumorskih biljega, iako nije ni tumor ni organ specifičan. Proizvode ga fetalno crijevo, jetra i gušterača između drugog i šestog mjeseca trudnoće pa ga svrstavamo u onkofetalne proteine (37). Proizvode ga brojni adenokarcinomi te karcinomi pločastih stanica pluća i drugih sijela (38). Nije dokazana njegova korist kao markera za probir, međutim koristan je u postoperativnom praćenju bolesnika u kombinaciji s CT-om. Medijan preživljenja bolesnika s razinom CEA < 30ng/ml je veći u odnosu na pacijente s razinom CEA > 30ng/ml (39). Razina CEA može biti povišena

i kod nezloćudnih bolesti (npr. ciroza, pankreatitis, hepatitis, kolecistitis i upalne plućne bolesti) i pušenja (20).

Odgovor tumora na preoperativnu radioterapiju (karcinom rektuma), kemoradijaciju (karcinom rektuma) ili kemoterapiju (karcinom debelog crijeva) važan je prognostički čimbenik. Postoje snažni dokazi da je potpuni nestanak tumora povezan s boljom prognozom. Bolesnici s minimalnom ili bez preostale bolesti nakon terapije ima bolju prognozu od onih s ostatnom bolesti. Na operacijskom uzorku bolesnika koji je prethodno bio podvrgnut radio i/ili kemoterapiji patolog mora zabilježiti karakteristike ostatnog tumora prema jednom od sustava za tumorski regresijski gradus (21, 40). Nakon neoadjuvantne kemoterapije bitno je pregledati i limfne čvorove jer bolesnik bez ostatne bolesti primarnog sijela može imati tumorske stanice u limfnom čvoru (41).

Cirkumferencijalni resekcijski rub (engl. *circumferential resection margin*, CRM) je udaljenost između najdublje točke invazije tumora u primarnom raku i resekcijskog ruba masnog tkiva. Što je veća udaljenost, to je bolja prognoza za karcinome debelog crijeva koji nastaju u područjima debelog crijeva koji djelomično nemaju peritonej. Postoje snažni dokazi kako je CRM jedna od najvažnijih prognostičkih odrednica lokalne kontrole kod karcinoma debelog crijeva. Udaljenost CRM od 0 do 1 mm nosi visoki rizik za recidiv tumora i povezana je sa slabijim preživljavanjem (42).

Limfovaskularna invazija (LVI), tj. invazija malih ili velikih krvnih žila primarnim tumorom je važan prognostički čimbenik. Male krvne žile uključuju strukture tankog zida koje su obložene samo endotelom kao što su limfne krvne žile, kapilare i postkapilarne vene. Za razliku od malih, velike krvne žile imaju glatkomišićnu stijenku (43). Invazija malih krvnih žila povezana je s metastazom u limfne čvorove, a nekoliko je studija pokazalo da je to nezavisni pokazatelj nepovoljnog ishoda (44).

Perineuralna invazija je invazija živaca unutar ili u susjedstvu primarnog kolorektalnog karcinoma i negativni je prognostički čimbenik koji može biti jednako važan kao invazija limfnih ili krvnih žila. Često se previdi, a može biti prisutan u čak 20% primarnih kolorektalnih karcinoma (45).

Mikrosatelitska nestabilnost (MSI) je jedan oblik genetičke nestabilnosti koji se očituje promjenama u nizu ponovljenih sekvenci od jedne do šest nukleotida (poznatih kao DNA mikrosatelitske sekvence), koje su uzrokovane funkcionalnim defektom u sustavu za popravak DNA (DNA MMR, engl. *DNA mismatch repair*) (46). Pojavljuju se u oko 15% kolorektalnih karcinoma i povezane su s karcinomima debelog crijeva desnog dijela, često kod slabo diferenciranih i mucinoznih, ali s dobrom prognozom (47). MSI je znak nasljednog

nepolipoznog raka debelog crijeva (HNPCC) ili Lynchovog sindroma. Visoka razina mikrosatelitske nestabilnost (MSI-H) je važna jer ne samo da je dobar prognostički čimbenik nego i predviđa loš odgovor na kemoterapiju 5-FU (36). Međutim, dodavanje oksaliplatina (u FOLFOX režimima) negira štetne učinke MSI-H (48).

### 1.3 MUTACIJA GENA KRAS i NRAS

Tijekom posljednje četvrtine prošlog stoljeća brojne studije su definirale proteine Ras kao bitne čimbenike signalnih putova koji kontroliraju staničnu proliferaciju, diferencijaciju ili preživljavanje. Poznate su mutacije proteina Ras – H-ras, N-ras ili K-ras koji se često nalaze u ljudskim tumorima (49). Geni KRAS i NRAS se aktiviraju kada receptor epidermalnog čimbenika rasta (EGFR) veže epidermalni čimbenik rasta (EGF, eng. *Epidermal growth factor*) ili slične čimbenike rasta i zatim aktivira proteine RAF ili PIK3CA. Zbog mutacije, geni KRAS i NRAS mogu biti stalno aktivirani i sudjelovati u kolorektalnoj karcinogenezi kontinuirano stimulirajući staničnu proliferaciju i sprječavajući staničnu smrt. Najčešće se aktiviraju mutacije u kodonima 12 i 13, a kodoni 61 i 146 te ostali kodoni su rjeđe mutirani (50). Gen KRAS može biti aktiviran somatskom mutacijom u do 40% karcinoma debelog crijeva, a NRAS u oko 7%. Aktiviranje bilo KRAS bilo NRAS gena je loš prognostički faktor u stadiju III i IV bolesti. Što je još važnije, aktivacija RAS-a predviđa loš odgovor na terapiju monoklonalnim anti-EGFR protutijelima u naprednom karcinomu debelog crijeva (35, 51). Kod pacijenata s mutacijom gena KRAS očekuje se slab odgovornost za anti-VEGF terapiju u naprednom karcinomu debelog crijeva (52).

BRAF je onkoprotein, točnije serin-treoninska kinaza koja prenosi stanične signale za proliferaciju i rast sa KRAS i NRAS signalnih sustava na druge enzimske sustave. Točkasta mutacija BRAF V600E može se otkriti u 6-10% kolorektalnih karcinoma i udužena je sa značajnije lošijom prognozom bolesti u stadiju III i IV. Ova mutacija konstitutivno potiče druge enzime koji posreduju kontinuiranom rastu stanica, a time se ukida učinkovitost EGFR inhibitora (38, 53).

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Primarni cilj ovog diplomskog rada je istražiti postoji li statistički značajna razlika pojavnosti mutacije gena KRAS i NRAS u desnostranom i lijevostranom karcinomu debelog crijeva bolesnika operiranih u Kliničkom bolničkom centru Split čija je mutacija određena u Kliničkom zavodu za patologiju, citologiju i sudsku medicinu na parafinskim uzorcima tumorskog tkiva u periodu od 2014. do 2017. godine.

Sekundarni ciljevi su:

1. odrediti frekvenciju određivanja mutacije gena KRAS i NRAS u istraživanom vremenskom razdoblju,
2. analizirati raspodjelu ispitanika prema spolu i dobi,
3. odrediti postotak lijevostranih i desnostranih tumora,
4. odrediti postotak mutacija gena KRAS i NRAS u svih ispitanika,
5. odrediti statističku značajnost pojavnosti mutacije gena KRAS i NRAS u desnostranom i lijevostranom karcinomu debelog crijeva.

### **3. MATERIЈAL I METODE**

### **3.1 Ispitanici**

U istraživanje je uključeno 136 bolesnika s karcinomom debelog crijeva operiranih u Kliničkom bolničkom centru Split, kojima je nakon operativnog zahvata provedena molekularna analiza mutacije KRAS i NRAS gena iz parafinskih uzoraka tumorskog tkiva u razdoblju od siječnja 2014. godine do kraja veljače 2017. godine.

Svim ispitanicima (n=136) je određena mutacija gena KRAS. Ispitanicima s negativnim nalazom mutacije gena KRAS i jednom ispitaniku s dokazanom mutacijom gena KRAS (n=73) rađena je analiza mutacije gena NRAS.

### **3.2 Organizacija istraživanja**

Prema načinu prikupljanja podataka istraživanje je opservacijsko, a prema vremenskoj orijentaciji retrospektivno.

### **3.3 Mjesto studije**

Istraživanje je provedeno u Kliničkom zavodu za patologiju, sudsku medicinu i citologiju Kliničkog bolničkog centra Split.

### **3.4 Metoda prikupljanja i obrade podataka**

Podaci su prikupljeni pretraživanjem baze podataka Laboratorija za kliničku i sudsku medicinu i Odjela za patologiju Kliničkog zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju te arhive Klinike za kirurgiju Kliničkog bolničkog centra Split.

Prikupljeni podaci uneseni su u programske pakete Microsoft Office za obradu teksta te Microsoft Excel za izradu tabličnog prikaza. Podaci su analizirani u statističkom programu „R“ te je urađen  $\chi^2$  test kojemu je statistički značajna p vrijednost postavljena na  $p < 0,05$ .

### **3.5 Opis istraživanja**

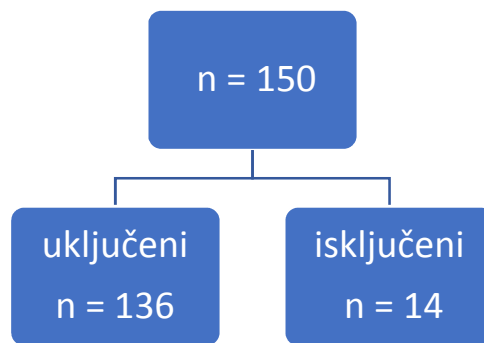
Istraživano je razdoblje od siječnja 2014. do kraja veljače 2017. godine. Izvor podataka bili su arhiva nalaza molekularne i patohistološke dijagnostike Kliničkog zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju te arhiva Klinike za kirurgiju Kliničkog bolničkog centra Split.

U istraživanom razdoblju ukupan broj bolesnika kojima je na parafinskim uzorcima tumorskog tkiva provedena molekularna analiza za određivanje mutacije gena RAS, a koji su



operirani u Kliničkom bolničkom centru Split bio je 150. Kod svakog bolesnika analizirani su: spol, dob, lokalizacija tumora i postojanje mutacije gena KRAS i NRAS.

Iz istraživanja je isključeno dvanaest bolesnika kojima iz arhivske medicinske dokumentacije nije bilo moguće precizno odrediti sijelo tumora te dva bolesnika kojima postupak određivanja mutacije nije uspio (Slika 2).



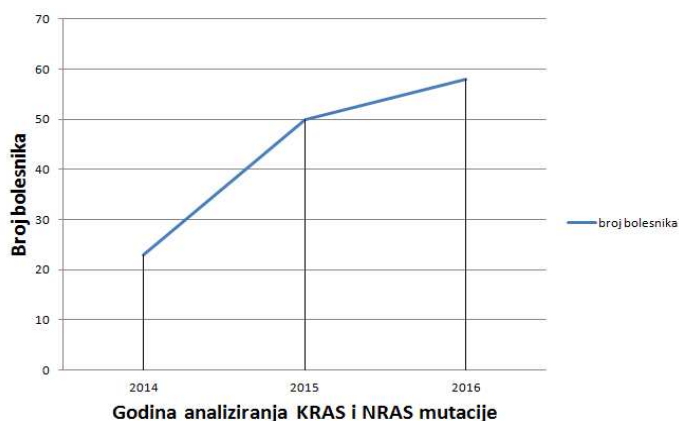
Slika 2. Prikaz odabira ispitanika

#### **4. REZULTATI**

U istraživanom razdoblju broj bolesnika kojima je određena mutacija bio je 23 u 2014. godini, 50 u 2015. godini, 58 u 2016. godini i 5 tijekom prva dva mjeseca 2017. godine (Tablica 3).

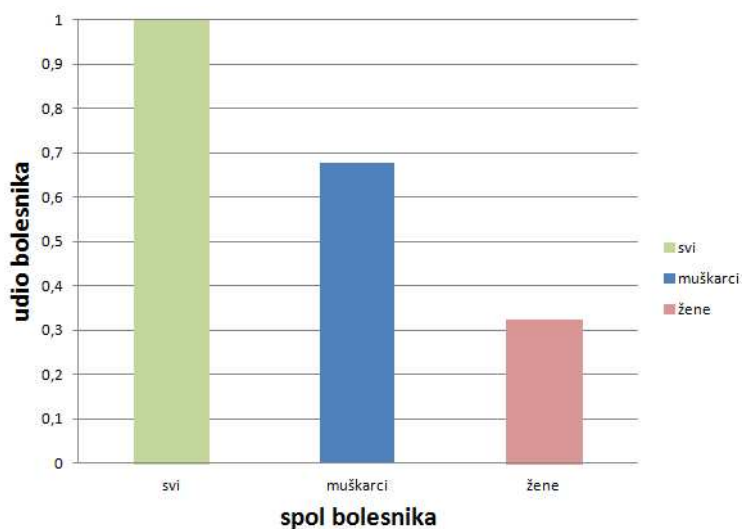
Tablica 3. Frekvencija određivanja mutacije gena RAS

Godina	Broj bolesnika
2014.	23
2015.	50
2016.	58
2017.	5



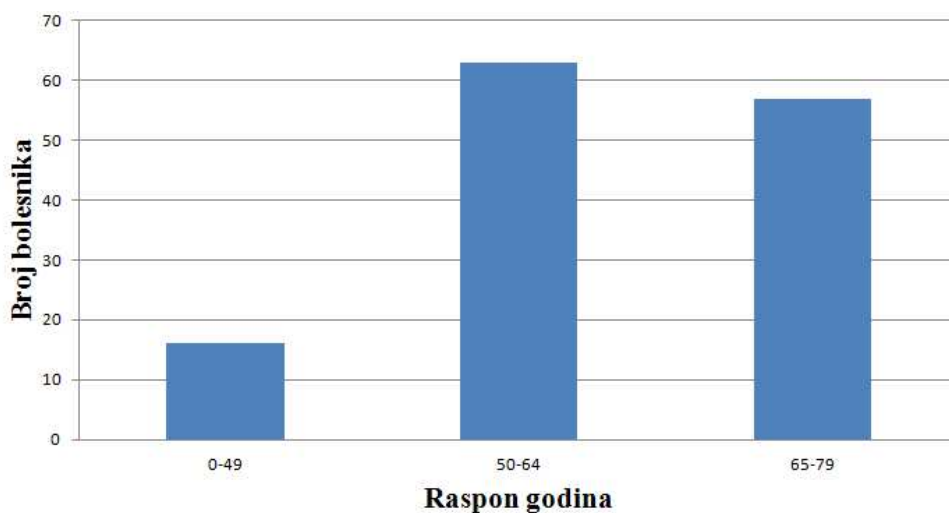
Slika 3. Frekvencija određivanja mutacije gena RAS

Od ukupnog broja bolesnika,  $n=136$ , bilo je 92 muškarca (67,65%), te 44 žene (32,35%) (Slika 4).

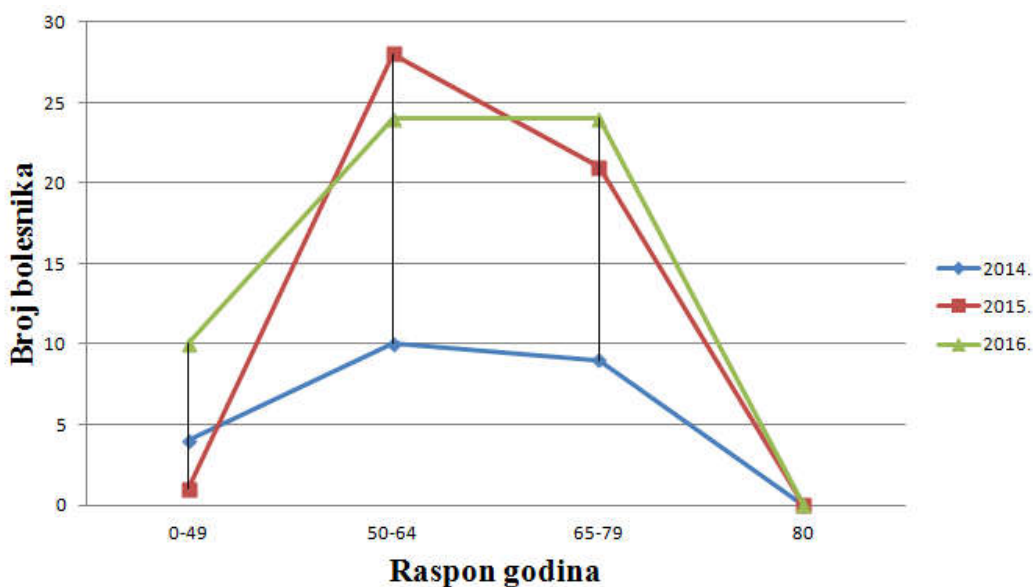


Slika 4. Prikaz bolesnika po spolu

Prosječna dob bolesnika je 62,32 godine (raspon 37–79 godina). Šesnaest je bolesnika mlađih od 50. godina (11,77%), 63 bolesnika imaju između 50. i 64. godine (46,32%), a 57 bolesnika ima između 65. i 79. godina (41,91%) (Slika 5). Najveći broj bolesnika svake analizirane godine je bio u dobnoj skupini između 50. i 64. godine (Slika 6).

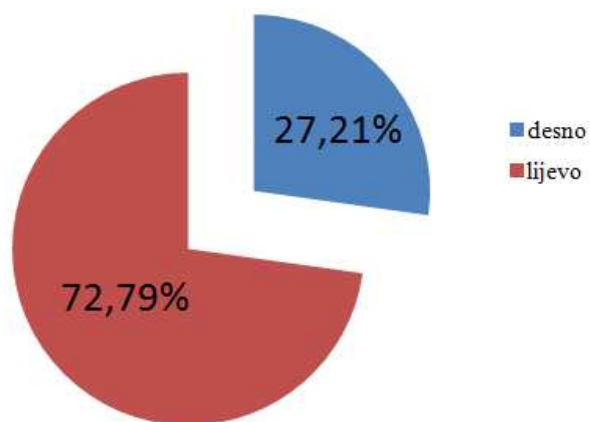


Slika 5. Raspodjela bolesnika s obzirom na dob



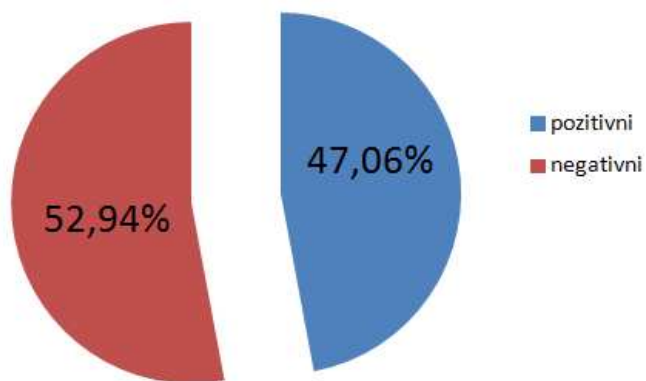
Slika 6. Dob bolesnika u analiziranom vremenskom razdoblju

Od ukupnog broja bolesnika ljevostranu lokalizaciju karcinoma debelog crijeva ima njih 99 (72,79%), a desnostranu 37 (27,21%) (Slika 7).



Slika 7. Postotak bolesnika s ljevostranim i desnostranim karcinomom debelog crijeva

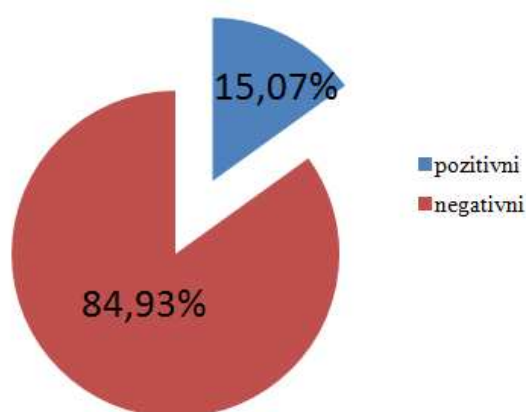
Od ukupnog broja bolesnika njih 64 (47,06%) ima, a 72 (52,94%) nema mutaciju gena KRAS (Slika 8).



Slika 8. Postotak bolesnika s pozitivnim i negativnim nalazom mutacije gena KRAS

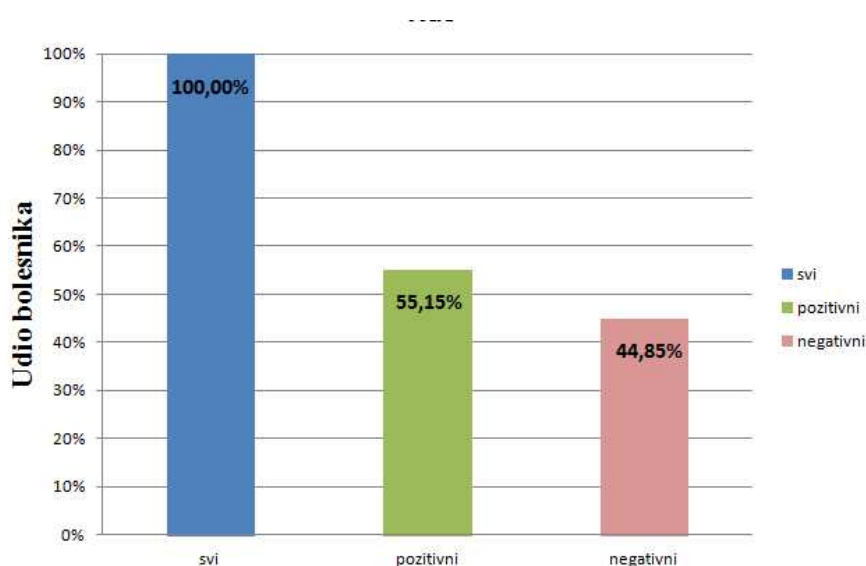
Od ukupnog broja bolesnika koji su obuhvaćeni ovim istraživanjem (n=136), za njih n=73 (53,68%) je provedeno testiranje na mutaciju gena NRAS.

Od broja bolesnika testiranih na mutaciju gena NRAS njih 11 (15,07%) ima, a 62 (84,93%) nema mutaciju gena NRAS (Slika 9).



Slika 9. Postotak bolesnika s pozitivnim i negativnim nalazom mutacije gena NRAS

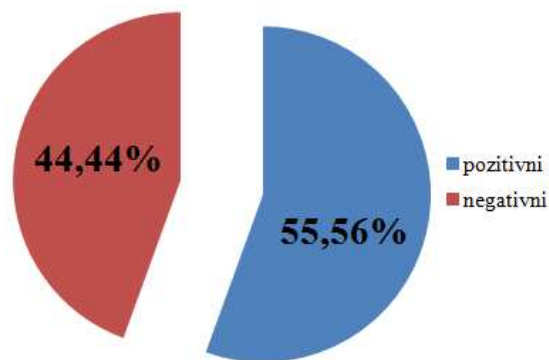
Od ukupnog broja bolesnika njih 75 (55,15%) ima, a 61 (44,85%) nema mutaciju gena KRAS ili NRAS (Slika 10).



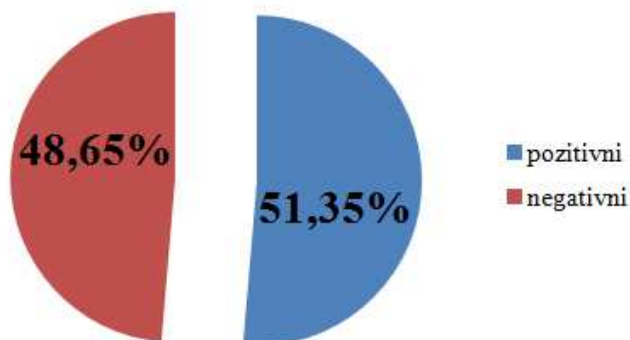
Slika 10. Postotak pozitivnih i negativnih nalaza mutacije analiziranih gena RAS u bolesnika s karcinomom debelog crijeva

Od bolesnika s lijevostranom lokalizacijom karcinoma njih 55 (55,56%) ima, a 44 (44,44%) nema mutaciju gena KRAS ili NRAS (Slika 11). Od bolesnika s desnostranom lokalizacijom karcinoma njih 19 (51,35%) ima, a 18(48,65%) nema mutaciju gena KRAS ili NRAS (Slika 12).

Nije utvrđena statistički značajna razlika u pojavnosti određivanih mutacija gena RAS uspoređujući desnostrane i lijevostrane karcinoma debelog crijeva ( $\chi^2$  test;  $p=0,6613$ ;  $p<0,05$  postavljen kao statistički značajan).



Slika 11. Postotak pozitivnih i negativnih nalaza mutacije gena KRAS i NRAS u bolesnika s lijevostranim karcinomom debelog crijeva



Slika 12. Postotak pozitivnih i negativnih nalaza mutacije gena KRAS i NRAS u bolesnika s desnostranim karcinomom debelog crijeva

## **5. RASPRAVA**



Karcinom debelog crijeva jedan je od najčešćih tumora na kojeg otpada 9,7% svih zloćudnih bolesti. Unatoč sve boljoj dijagnostici i terapiji smrtnost mu je i dalje visoka (6).

U ovom radu postotak ispitanika muškog spola bio je 67,65%, a ženskog spola 32,35%, izraženo kao odnos muškog i ženskog spola to je 68:32. Prema podacima iz 2014. godine odnos osoba muškog i ženskog spola među novodijagnosticiranim bolesnicima bio je 53:47 (11). U ovom radu su analizirani bolesnici kojima je uzorak upućen na molekularnu analizu mutacije gena KRAS i NRAS u uzorcima tumorskog tkiva i udio bolesnika muškog spola je bio veći od udjela osoba muškog spola među novodijagnosticiranim.

Prema podacima Nacionalnog instituta za tumore Sjedinjenih Američkih Država najveći broj bolesnika u vrijeme postavljanja dijagnoze karcinoma debelog crijeva je u dobi od 65. do 74. godine, a medijan godina u vrijeme postavljanja dijagnoze je 67. Postotak novodijagnosticiranih s 84 i više godina je 11,2% (8). Medijan naših bolesnika nešto je niži i iznosi 63 godine. Najstariji ispitanik u ovom istraživanju imao je 79, a najmlađi 37 godina. Iz toga bi se moglo zaključiti da je krivulja raspodjele ispitanika u ovom radu po godinama pomaknuta prema ranijoj životnoj dobi.

Geni KRAS i NRAS imaju važnu ulogu u signalnom putu koji kontrolira proliferaciju stanica i preživljavanje. Aktiviranje bilo kojeg gena RAS je loš prognostički faktor u stadiju III i IV bolesti. Prema istraživanjima, među kojima je i ono Allegra CJ i suradnika, aktivacija RAS-a predviđa loš odgovor na terapiju monoklonalnim anti-EGFR protutijelima u naprednom kolorektalnom karcinomu (35). Novija istraživanja, uključujući i ono W.A.Bleekera i sur. pokazuju da postoji značajna razlika u pojavnosti mutacija gena KRAS i NRAS u desnostranom i lijevostranom karcinomu debelog crijeva što bi bilo značajno za dijagnostiku i terapiju karcinoma debelog crijeva. Istraživanje je provedeno na 55 bolesnika, od čega je 13 (23,64%) bolesnika imalo mutaciju gena KRAS. U desnostranom karcinomu debelog crijeva postotak pozitivnih mutacija iznosio je u 38,46% dok je u lijevostranom 10,34% mutacija bilo je pozitivno (54). Slično tom istraživanju, više pozitivnih mutacija u desnostranom karcinomu debelog crijeva potvrđuje i istraživanje Takahashi Y i sur (55). U ovom diplomskom radu od 136 bolesnika njih 64 (47,06%) imalo je mutaciju gena KRAS. U desnostranom karcinomu debelog crijeva postotak pozitivnih mutacija iznosio je 45,95% dok je u lijevostranom 47,47% mutacija bilo je pozitivno (54). Uspoređujući rezultate našeg istraživanja s istraživanjem koje je proveo W.A.Bleeker proizlazi da bolesnici kojima je karcinom debelog crijeva operiran u Splitu imaju dva puta veći postotak ukupnih pozitivnih KRAS mutacija. Jednako tako, u Splitu je veći postotak mutacija u lijevostranom karcinomu u odnosu na desnostrani dok je u navedenim istraživanjima W.A.Bleekera kao i onome

Takahashi Y i sur gotovo četiri puta veći postotak mutacija dokazan desno. Analizom podataka nismo utvrdili statistički značajnu razliku u pojavnost mutacija određenih gena RAS u ljevostranom i desnostranom karcinomu debelog crijeva.

KRAS može biti aktiviran somatskom mutacijom do 40% kolorektalnih karcinoma i NRAS u oko 7% (35). Kako je u našem istraživanju postotak ukupnih pozitivnih mutacija gena KRAS 47,06% to je nešto više od podatka koji je zabilježen u literaturi, a postotak pozitivnih NRAS mutacija je 15,07% što je čak dva puta više u odnosu na zabilježenih 7%.

## **6. ZAKLJUČCI**

1. Broj bolesnika kojima je određena mutacija gena KRAS i NRAS je veći svake godine. Tako se s 23 bolesnika 2014.godine povećao na 50 bolesnika 2015.godine.

2. Veći je udio bolesnika muškog spola (67,65%) od onih ženskog spola (32,35%). Prosječna dob ispitanika je 62,32 godine. Najviše bolesnika ima životnu dob između 50. i 64. godine (46,32%).

3. U većine ispitanika karcinom debelog crijeva lokaliziran je lijevo (72,79%), dok manji dio ima desnostrani karcinom debelog crijeva (27,21%).

4. Postotak ispitanika bez mutacije gena KRAS (52,94%) je veći u odnosu na postotak ispitanika koji imaju mutaciju (47,06%). I postotak ispitanika bez mutacije gena NRAS (84,93%) je veći u odnosu na postotak ispitanika koji imaju mutaciju (15,07%). Mutaciju oba analizirana gena (KRAS ili NRAS) ima da nešto veći postotak ispitanika (55,15%), od onih koje je nemaju (44,85%).

5. Nije utvrđena statistički značajna razlika u pojavnosti mutacije analiziranih gena RAS uspoređujući desnostrane i lijevostrane karcinoma debelog crijeva ( $\chi^2$  test;  $p=0,6613$ ;  $p<0,05$  postavljen kao statistički značajan).

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Krmpotić-Nemanić J, Marušić A. Systema digestorium. U: Krmpotić-Nemanić J, Marušić A,ur. Anatomija čovjeka. Zagreb: Medicinska naklada; 2007. str. 342–49.
2. American joint committee on cancer. Colon and Rectum. U: Amin MB, i sur, ur. AJCC cancer staging manual. Chicago: Springer Nature; 2017.str. 251–71.
3. Šoša T, Sutlić Ž, Stanec Z, Tonković I, i sur. Adominalna kirurgija. U: Pavičić P, ur. Kirurgija. Zagreb: Naklada Ljevak; 2007. str. 359–658.
4. Sadler TW. Probavni sustav. U: Brademante Ž, Grbeša Đ, ur. Langmanova medicinska embriologija. Zagreb: Školska knjiga; 2008. str. 205–29.
5. Mik M, Berut M, Dizil L, Trzcinski R, Dziki A. Right and left sided colon cancer – clinical and pathological differences of the disease entity in one organ. Archives of Medical Science. 2017;13(1):157–62.
6. Population Fact Sheets [Internet]. Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. 2012 [citirano: 21. lipnja 2017.]. Dostupno na: [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_population.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx)
7. Damjanov I, Jukić S, Nola M. Bolesti probavnog sustava. U: Damjanov I, Jukić S, Nola M, ur. Patologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2011. str 555–7.
8. Cancer statistic facts: Colon and Rectum cancer [Internet]. National cancer institute. 2014 [ citirano: 23. Lipnja 2017]. Dostupno na: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/colorect.html>
9. Cancer Fact Sheets [Internet]. Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. 2012 [citirano: 21. lipnja 2017.]. Dostupno na: [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx)
10. Vucelić B, i sur. Rak debelog crijeva. U: Križan I, Raić F, Živković R, ur. Gastroenterologija i hepatologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2002. str. 895–910.
11. Hrvatski zavod za javno zdrastvo, Registra za rak, izvješća (2014) [Internet]. Zagreb; 2015. [citirano: 27 lipnja 2017.]. Dostupno na: [https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2013/11/Bilten-2014\\_final.pdf](https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2013/11/Bilten-2014_final.pdf)
12. Ma P, Yao Y, Sun W, Dai S, Zhou C. Daily sedentary time and its association with risk for colorectal cancer in adults: A dose–response meta-analysis of prospective cohort studies. Medicine. 2017;96(22):e7049.
13. Kune GA, Vitetta L. Alcohol consumption and the etiology of colorectal cancer: A review of the scientific evidence from 1957 to 1991. Nutrition and Cancer. 1992;18(2):97–111.

14. Zhao TY, et al. The Efficacy of Aspirin in Preventing the Recurrence of Colorectal Adenoma: a Renewed Meta-Analysis of Randomized Trials. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2017;17(5):2711–17.
15. Learning about colon cancer [Internet]. National human genome research institute. 2012 [citirano 1. srpnja 2017.]. Dostupno na: <https://www.genome.gov/10000466/>
16. Zheng HH, Jiang XL. Increased risk of colorectal neoplasia in patients with primary sclerosing cholangitis and inflammatory bowel disease: a meta-analysis of 16 observational studies. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2016;28(4):383–90.
17. Riihimäki M, Hemminki A, Sundquist J, Hemminki K. Patterns of metastasis in colon and rectal cancer. *Scientific Reports.* 2016;6:29765.
18. Metastatic cancer [Internet]. National cancer institute. 2017 [citirano: 3. srpnja 2017.]. Dostupno na: <https://www.cancer.gov/types/metastatic-cancer#symptoms>
19. Fleming M, Ravula S, Tatishev SF, Wang HL. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *J Gastrointest Oncol.* 2012;3(3):153–73.
20. Vrdoljak E, Šamija M, Kusić Z, Petrović M, Gugić D, Krajina Z. *Klinička onkologija.* 1. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2013. str. 137–41.
21. Protocol of the Examination of specimens for patients With Primary Carcinoma Of Colon And Rectum [Internet]. College of American Pathologists. 2016 [citirano: 2. srpnja 2017.]. Dostupno na: <http://www.cap.org/ShowProperty?nodePath=/UCMCon/Contribution%20Folders/WebContent/pdf/cp-colon-16protocol-3400.pdf>
22. Hari DM, Leung AM, Lee JH, Sim MS, Vuong B, Chiu CG, et al. AJCC-7<sup>TH</sup> Edition Staging Criteria for Colon Cancer: Do the Complex Modifications Improve Prognostic Assessment?. *J Am Coll Surg.* 2013;217(2):181–90.
23. Akkoca AN, Yanık S, Ozdemir ZT, Cihan FG, Sayar S, Cincin TG, et al. TNM and Modified Dukes staging along with demographic characteristics of patients with colorectal carcinoma. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7(9):2828–35.
24. Celiku E, Dracini XM, Dibra A, Di Mateo FM, Catania A. Rectal cancer surgery. A ten years experience. *Gchir Vol.* 2010;31:507–10.
25. Guidelines for colon and rectal cancer [Internet]. National comprehensive cancer network. 2017 [citirano: 26. Lipnja 2017.]. Dostupno na: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp)

26. Washington MK, Berlin J, Branton P, et al. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Primary Carcinoma of the Colon and Rectum. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2009;133(10):1539–51.
27. Fokas E., et al. Tumor Regression Grading After Preoperative Chemoradiotherapy for Locally Advanced Rectal Carcinoma Revisited: Updated Results of the CAO/ARO/AIO-94 Trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2014;32(15):1554–62.
28. Sloothaak DA, et al. The prognostic value of micrometastases and isolated tumour cells in histologically negative lymph nodes of patients with colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol*. 2014;40(3):263–9.
29. Chen VW, Hsieh MC, Charlton ME, Ruiz BA, Karlitz J, Altekruse SF, et al. Analysis of stage and clinical/prognostic factors for colon and rectal cancer from SEER registries: AJCC and collaborative stage data collection system. *Cancer*. 2014;120(23):3793-806.
30. Franko J, Shi Q, Goldman CD, Pockaj BA, Nelson GD, Goldberg RM, et al. Treatment of colorectal peritoneal carcinomatosis with systemic chemotherapy: a pooled analysis of north central cancer treatment group phase III trials N9741 and N9841. *J clin Oncol*. 2012;30(3):263–7.
31. Ministarstvo zdravlja i socijalne skrbi Republike Hrvatske, Nacionalni program ranog otkrivanja raka debelog crijeva [Internet]. Zagreb, 2007. [citirano 29. Lipnja 2017.]. Dostupno na: <https://zdravlje.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/Programi,%20projekti%20i%20strategije/Nacionalni%20program%20ranog%20otkrivanja%20raka%20debelog%20crijeva.pdf>
32. Karcinom debelog crijeva [Internet]. ILCO savez. 2016 [citirano: 5. srpnja 2017.]. Dostupno na: <https://www.ilco.hr/index.php/2013-11-19-17-20-10/2013-11-19-17-21-20>
33. Fecal occult Blood Tests (FOBT) [Internet]. Cancer council Victoria. 2016 [citirano: 3. srpnja 2017.]. Dostupno na: [http://www.cancervic.org.au/preventing-cancer/attend-screening/bowel\\_cancer\\_screening/faecal\\_occult\\_blood\\_tests](http://www.cancervic.org.au/preventing-cancer/attend-screening/bowel_cancer_screening/faecal_occult_blood_tests)
34. Rak debelog crijeva – dijagnoza [Internet]. Onkologija. 2016 [citirano: 10. srpnja 2017.]. Dostupno na: <http://www.onkologija.hr/rak-debelog-crijeva/rak-debelog-crijeva-dijagnoza/>
35. Allegra CJ, Jessup JM, Somerfield MR, Hamilton SR, Hammond EH, Hayes DF, et al. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: testing for KRAS gene mutations in patients with metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy. *J Clin Oncol*. 2009;27(12):2091–96.



36. Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, et al. Defective Mismatch Repair As a Predictive Marker for Lack of Efficacy of Fluorouracil-Based Adjuvant Therapy in Colon Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(20):3219–26.
37. Gold P, Freedman SO. Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J Exp Med*. 1965;122(3):467–81.
38. Thomas P, Petrick AT, Toth CA, Fox ES, Elting JJ, Steele G Jr. A peptide sequence on carcinoembryonic antigen binds to a 80kD protein on Kupffer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1992;188(2):671–7.
39. Locker GY, et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24(33):5313–27.
40. Xu L, Cai S, Xiao T, Chen Y, Qin H, Wu B, et al. Prognostic significance of tumour regression grade after neoadjuvant chemoradiotherapy for a cohort of patients with locally advanced rectal cancer: an 8 year retrospective single-institutional study. *Colorectal Dis*. 2017;19(7):0263-71.
41. Ryan R, Gibbons D, Hyland JMP, White A, Mulcahy HE, et al. Pathological response following long-course neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. *Histopathology*. 2005;47(2):141–6.
42. Wittekind C, et al. A uniform residual tumor (R) classification: integration of the R classification and the circumferential margin status. *Cancer*. 2009;115(15):3483–88.
43. Junqueira L, Carneiro J. *Probavni sustav. U: Junqueira L, Carneiro J, ur. Osnove histologije*. Zagreb: Školska knjiga; 2005. str. 216–9.
44. Lim SB, et al. Prognostic significance of lymphovascular invasion in sporadic colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*. 2010;53(4):377–84.
45. Liebig C, Ayala G, Wilks J, et al. Perineural Invasion Is an Independent Predictor of Outcome in Colorectal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2009;27(31):5131–7.
46. Ogino S, et al. KRAS mutation in stage III colon cancer and clinical outcome following intergroup trial CALGB 89803. *Clin Cancer Res*. 2009;15(23):7322–9.
47. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, de la Chapelle A, Ruschoff J, et al. Revised Bethesda Guidelines for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (Lynch Syndrome) and Microsatellite Instability. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(4):261–8.
48. Li P, Fang YJ, Li F, Ou QJ, Chen G, Ma G. ERCC1, defective mismatch repair status as predictive biomarkers of survival for stage III colon cancer patients receiving oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy. *British Journal of Cancer*. 2013;108(6):1238–44.

49. Zenonos K, Kyprianou K. RAS signaling pathways, mutations and their role in colorectal cancer. *World J Gastrointest Oncol*. 2013;5(5):97–101.
50. Ciardiello F, Normanno N, Maiello E, Martinelli E, Troiani T, Piscconti S, et al. Clinical activity of FOLFIRI plus cetuximab according to extended gene mutation status by next-generation sequencing: findings from the CAPRI-GOIM trial. *Ann Oncol*. 2014;25(9):1756–61.
51. Shaib W, Mahajam R, El-Rayes B. Markers of resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *J Gastrointest Oncol*. 2013;4(3):308-18.
52. Petrelli F, Coinu A, Cabiddu M, Ghilardi M, Barni S. KRAS as prognostic biomarker in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab: a pooled analysis of 12 published trials. *Medical Oncology*. 2013;30(3): 650.
53. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*. 2012;487(7407):330–7.
54. Bleeker WA, et al. Impact of KRAS and TP53 mutations on survival in patients with left- and right-sided Dukes' C colon cancer. *Am J Gastroenterol*. 2000;95(10): 2953-57.
55. Takahashi Y, et al. Molecular differences in the microsatellite stable phenotype between left-sided and right-sided colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2016;139(11):2493-501.

## **8. SAŽETAK**

**Cilj istraživanja:** karcinom debelog crijeva jedan je od najčešćih tumora na kojeg otpada 9,7% svih zloćudnih bolesti. Cilj ovog diplomskog rada je istražiti postoji li statistički značajna razlika pojavnosti mutacije gena KRAS i NRAS u desnostranom i lijevostranom karcinomu debelog crijeva bolesnika operiranih u Kliničkom bolničkom centru Split čija je mutacija određena u Kliničkom zavodu za patologiju, citologiju i sudsku medicinu na parafinskim uzorcima tumorskog tkiva u periodu od 2014. do 2017. godine.

**Ispitanici i metode:** U istraživanje je uključeno 136 bolesnika s karcinomom debelog crijeva operiranih u Kliničkom bolničkom centru Split, kojima je nakon operativnog zahvata provedena molekularna analiza mutacije KRAS i NRAS gena iz parafinskih uzoraka tumorskog tkiva u razdoblju od siječnja 2014. godine do kraja veljače 2017. godine. Podaci su prikupljeni pretraživanjem baze podataka Laboratorija za kliničku i sudsku medicinu i Odjela za patologiju Kliničkog zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju te arhive Klinike za kirurgiju Kliničkog bolničkog centra Split. Svakom bolesniku prikupljeni su i analizirani podaci o spolu, dobi, lokalizacija bolesti (desno ili lijevo) i postojanje KRAS i NRAS mutacije. Svim ispitanicima (n=136) je određena mutacija gena KRAS. Ispitanicima s negativnim nalazom mutacije gena KRAS i jednom ispitaniku s dokazanom mutacijom gena KRAS (n=73) rađena je analiza mutacije gena NRAS.

**Rezultati:** Od ukupnog broja bolesnika analiziranih na KRAS i NRAS mutaciju (n=136), na muškarce otpada 92 (67,65%), a na žene 44 (32,35%), što ukazuje na 2 puta učestalije obolijevanje kod muškaraca nego kod žena. Prosječna dob bolesnika je 62,32 godina (raspon 37-79). Analiza je pokazala da najviše bolesnika ima između 50. i 64. godina (42,32 %). Od ukupnog broja bolesnika lijevostranu lokalizaciju karcinoma debelog crijeva ima njih 99 (72,79%), a desnostranu 37 (27,21%). Od ukupnog broja bolesnika njih 64 (47,06%) ima, a 72 (52,94%) nema mutaciju gena KRAS. Mutacija NRAS gena testirana je kod 73 (53,68%) ispitanika, od kojih njih 11 (15,07%) ima, a 62 (84,93%) nema mutaciju gena NRAS. Analiza statistički značajne razlike KRAS i NRAS mutacija desnostranog i lijevostranog karcinoma debelog crijeva provjerena je  $\chi^2$  testom te je  $p=0,6613$  ( $p<0,05$  postavljen kao statistički značajan).

**Zaključci:** Broj bolesnika kojima je određena mutacija gena KRAS i NRAS je veći svake godine. Veći je udio bolesnika muškog spola od onih ženskog spola. KRAS i NRAS mutacije su negativni prognostički faktori. Njihova aktivacija predviđa loš odgovor na

terapiju monoklonalnim anti-EGFR protutijelima u naprednom karcinomu debelog crijeva. Pojedina istraživanja pokazala su da postoji bitna razlika u pojavnosti KRAS i NRAS mutacije između lijevostranog i desnostranog karcinoma debelog crijeva. U ovom istraživanju kod većine ispitanika karcinom debelog crijeva lokaliziran je lijevo, dok manji dio ima desnostrani karcinom debelog crijeva. Postotak ispitanika bez mutacije gena KRAS je veći u odnosu na postotak ispitanika koji imaju mutaciju. I postotak ispitanika bez mutacije gena NRAS je veći u odnosu na postotak ispitanika koji imaju mutaciju. Mutaciju oba analizirana gena (KRAS ili NRAS) ima da nešto veći postotak ispitanika, od onih koje je nemaju. Nije utvrđena statistički značajna razlika u pojavnosti mutacije analiziranih gena RAS uspoređujući desnostrane i lijevostrane karcinoma debelog crijeva.

## **9. SUMMARY**

**Research Objective:** Colorectal cancer is one of the most common tumors, which accounts for 9.7% of all malignant diseases (6). The aim of this thesis is to investigate whether there is a statistically significant difference in occurrence between the mutation of KRAS and NRAS genes in the right-sided and left-sided colorectal cancer of patients treated with surgery at the University hospital of Split, whose mutation was determined in the Clinical Institute of Pathology, Cytology and Judicial Medicine on paraffin tumor tissue patterns in the period from 2014 to 2017.

**Subjects and Methods:** The study included 136 patients with colorectal cancer treated with surgery at the University hospital of Split, who after the operation were analysed on mutations of KRAS and NRAS genes from paraffin tumor tissue samples from January 2014 to the end of February 2017 year. Data was collected by searching the database of the Clinical and Judicial Medicine Laboratory and Department of Pathology of the Clinical Institute of Pathology, Judicial Medicine and Cytology and the Clinic for Surgery of the University hospital of Split. All patients were collected and analyzed on gender, age, localization of the disease (right or left) and the existence of KRAS and NRAS mutations. All patients (n = 136) were analyzed on mutation of KRAS gene. Patients with a negative mutation finding of KRAS gene and one patients with proven mutation of KRAS gene (n = 73) were analyzed to a NRAS mutation analysis.

**Results:** Of the total number of patients analyzed on KRAS and NRAS mutation (n = 136), men were 92 (67.65%) and women 44 (32.35%), which indicates a twice-frequent incidence of males rather than women. The average age of the patient was 62.32 years (range 37-79). The analysis showed that most patients were between 50 and 64 years (42.32%). Out of the total number of patients the number of left-sided tumor was 99 (72.79%), and right-sided 37 (27.21%). Out of the total number of patients there were 64 (47.06%) who had mutation, and 72 (59.84%) did not have KRAS mutations. The mutation of NRAS genes was tested in 73 (53.68%) patients, of whom 11 (15.07%) had mutation and 62 (84.93%) did not have NRAS mutation. Statistically significant differences KRAS and NRAS mutations of right and left colorectal cancer were checked by the  $\chi^2$  test in which  $p = 0.6613$  ( $p < 0.05$  set as statistically significant).

**Conclusions:** The number of patients with KRAS and NRAS mutations is getting higher every year. There was a higher percentage of male patients than female. KRAS and NRAS mutations are negative prognostic factors. Their activation predicts poor response to

monoclonal anti-EGFR antibodies therapy in advanced colorectal cancer. In this study, most colorectal cancer were left-sided, while less patients had right-sided colorectal cancer. The percentage of patients with no mutation of KRAS genes was higher than the percentage of patients with mutation. Also, the percentage of patients without NRAS mutation was higher than the percentage of patients who had a mutation. The mutation of both analyzed genes (KRAS or NRAS) had a slightly higher percentage of positive patients than those who did not have mutation. There was no statistically significant difference in the occurrence of RAS mutations by comparing right-sided and left-sided colorectal cancer.



## **10. ŽIVOTOPIS**

**OSOBNI PODATCI:**

IME I PREZIME: Marija Babić

DATUM I MJESTO ROĐENJA: 15.10.1992., Split, Republika Hrvatska

DRŽAVLJANSTVO: Republike Hrvatske

ADRESA: Andrijice Šimića 10, Šine, 21 000 Split, Republika Hrvatska

KONTAKT: +38598402019

E-ADRESA: marija-babic92@hotmail.com

SPOL: žensko

**OBRAZOVANJE:**

1999.-2007. : Osnovna škola „Kamen-Šine“, Split

2007.-2011. :III. gimnazija, Split

2011.-2017. : Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, studij medicine

**AKTIVNOSTI**

2012. – 2013. demonstrator na katedri za medicinsku biologiju

2012. – 2013. mentor na Ljetnoj tvornici znanosti

2013. – 2017. demonstrator na katedri za medicinsku kemiju i biokemiju

2013 – član Međunarodne udruge liječnika i studenata medicine IPPNW

2014. – 2016. volonter na Festivalu znanosti

2015. Studentska razmjena Bridges of Understanding (IPPNW), odsjek interne medicine i odsjek kirurgije, Missionsärztliche Klinik Würzburg, Njemačka

**OSOBNJE VJEŠTINE I OSPOSOBLJENOST:**

→strani jezici: -engleski jezik (C2)

-njemački jezik (B2)

→ dobro služenje računalom i Microsoft Office programom

→vozačka dozvola B kategorije