doi:10.25143/prom-rsu_2022-13_pdk

Rīgas Stradiņa universitāte

Inese Briede

Epiteliāli mezenhimālas transformācijas, iekaisuma un cilmes šūnu diferenciācijas saistība kolorektālā vēzī

Promocijas darba kopsavilkums zinātniskā doktora grāda "zinātnes doktors (*Ph. D.*)" iegūšanai

Nozare – medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācija
Apakšnozare – patoloģija

Rīga, 2022

RĪGAS STRADIŅA UNIVERSITĀTE

Inese Briede

ORCID 0000-0003-4462-3317

Epiteliāli mezenhimālas transformācijas, iekaisuma un cilmes šūnu diferenciācijas saistība kolorektālā vēzī

Promocijas darba kopsavilkums zinātniskā doktora grāda "zinātnes doktors (*Ph. D.*)" iegūšanai

Nozare – medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācija

Apakšnozare – patoloģija

Rīga, 2022

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātē, Patoloģijas katedrā, Latvijā

Promocijas darba vadītāji:

Dr. habil. med. profesors **Jānis Gardovskis**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. med. profesore **Ilze Štrumfa**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. habil. med. profesore **Māra Pilmane**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. med. asociētā profesore **Ave Minajeva**,
Tartu universitāte, Igaunija

Dr. med. profesors ***Arvydas Laurinavicius***,
Viļņas universitāte, Lietuva

Promocijas darbs tiks aizstāvēts Medicīnas bāzes zinātņu, tai skaitā farmācijas promocijas padomes atklātā sēdē 2022. gada 13. decembrī plkst. 10.00, attālināti, tiešsaistes platformā *Zoom*

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē: https://www.rsu.lv/promocijas-darbi

Promocijas padomes sekretāre:

Dr.med. docente **Anna Junga**

Satura rādītājs

Darbā izmantotie saīsinājumi....4
Ievads 6
1. Materiāli un metodes....10
1.1. Pētījuma uzbūve 10
1.2. Pacientu atlase 10
1.3. Makroskopiskās izmeklēšanas izvērtēšana 11
1.4. Audu apstrāde un mikroskopiskā izmeklēšana 11
1.5. Imūnhistoķīmiskā vizualizācija un izvērtēšana 13
1.6. Statistiskā analīze 16
2. Rezultāti 18
2.1. Pacientu un ķirurģisko datu apraksts 18
2.1.1. Pētījuma grupas raksturojums 18
2.1.2. Makroskopiskās izmeklēšanas atrade 18
2.2. Morfoloģija 19
2.2.1. Primārā KRV raksturojums 19
2.2.2. Peritumorozā iekaisuma raksturojums 23
2.3. KRV imūnhistoķīmiskais raksturojums 28
2.3.1. Citotoksiskie T-limfocīti (CD8+) 29
2.3.2. EMT raksturojums pētījuma grupā 30
2.4. DNS labotājgēnu proteīnu ekspresija 35
3. Diskusija 40
3.1. Klīniskā un morfoloģiskā atrade 40
3.2. Iekaisums kolorektālā vēzī 45
3.3. Epiteliāli mezenhimālā transformācija 49
3.4. EMT un iekaisuma mijiedarbība 51
3.5. DNS labotājgēnu proteīni 54
Secinājumi 58
Praktiskās rekomendācijas....60
Publikācijas par pētījuma tēmu....62
Izmantotā literatūra....67

Darbā izmantotie saīsinājumi

AAM	alternatīvi aktivētie makrofāgi
Ag	antigēns
ASV	Amerikas Savienotās valstis
CD	diferenciācijas klasteris C*cluster of Differentiation*)
CLR	Kronam līdzīgā limfoīdā reakcija
CRP	C reaktīvais proteīns
DNS	dezoksiribonukleīnskābe
EMT	epiteliāli mezenhimālā transformācija
HE	hematoksilīns un eozīns
IHĶ	imūnhistoķīmija
IQR	starpkvartiļu intervāls (*Interquartile Range*)
IT	intratumorozs
KRV	kolorektāls vēzis
MMR	neatbilstības labošana (*Mismatch Repair*)
MSI	mikrosatelītu nestabils (*Microsatelite Instable*)
MSS	mikrosatelītu stabils
pG1-3	audzēja diferenciācijas pakāpe
pN0-N+	reģionālo limfmezglu stāvokļa apzīmējums attiecībā uz audzēja metastāžu klātbūtni pēc morfoloģiskās izmeklēšanas datiem
pN1c	apzīmējums audzēja mezgliņiem taukaudos
PT	peritumorozs
pT1-4	lokālās audzēja izplatības raksturojums pēc morfoloģiskās izmeklēšanas datiem
SD	standarta deviācija
sKRV	sinhrons kolorektāls vēzis
TAM	ar audzēju saistītie makrofāgi (*Tumor Associated Macrophages*)
TI	ticamības intervāls

TIL	tumoru infiltrējošie leikocīti
TNM	ļaundabīgu audzēju klasifikācija, kas balstīta uz audzēja anatomiskās izplatības principiem: primārā audzēja lokālā izplatība (T), reģionālo limfas mezglu stāvoklis attiecībā uz audzēja metastāzēm (N), attālu metastāžu klātbūtnes vērtējums (M) (*Tumour, Node, Metastasis*)

Ievads

Kolorektālais vēzis (KRV), neņemot vērā plašus zinātniskos pētījumus, joprojām ir viens no audzējiem ar visaugstāko mirstību visā pasaulē. Saskaņā ar GLOBOCAN (globālā vēža) statistika 2020. gadā tika diagnosticēti 19,3 miljoni jaunu KRV gadījumu un 0,94 miljoni ar KRV saistītu nāves gadījumu (Xi and Xu, 2021).

Iekaisumam neoplastiskos audos ir raksturīga divējāda darbība, tas ne tikai var veicināt audzēja progresiju, bet arī sekmēt audzēja augšanas supresiju. KRV iekaisums ir viens no faktoriem, kas veicina tā kanceroģenēzi, attīstību un progresiju. Iekaisuma šūnas producē augšanas faktorus, kas stimulē neoplastisko šūnu proliferāciju, veicina angioģenēzi un veicina saistaudu degradāciju, tādējādi veicinot audzēja invāziju. Attiecīgi tiek radīta labvēlīga mikrovide audzēja attīstībai. Tomēr ir konstatēts arī pretējs efekts, kad iekaisuma reakcija inducē audzēja šūnu nāvi (Hanahan and Coussens, 2012; Galdiero, Garlanda et al., 2013). Viens no galvenajiem faktoriem, kas ir iesaistīts audzēja progresijā, ir iekaisumu veicinošais citokīns TNFα, ko producē makrofāgi. TNFα ir arī būtiska loma epiteliāli mezenhimālās transformācijas (EMT) attīstībā, tā kā tas ierosina transkripcijas faktora Snail pārmērīgu ekspresiju, kas savukārt izraisa E-kadherīna pazeminātu un paaugstinātu N-kadherīna regulāciju (Wang, Wang et al., 2013; Zhang, Xu et al., 2019), kas ir vienas no galvenajām EMT procesā iesaistītajām molekulām. Iekaisuma citokīni ietekmē arī β-katenīna ekspresiju, kas ir vēl viena no EMT procesā iesaistītajām molekulām, tādējādi ietekmējot KRV attīstību (Keerthivasan, Aghajani et al., 2014). Cilmes šūnām raksturīgā marķiera CD44 ekspresija KRV (Mukohyama, Shimono et al., 2017) arī cieši saistīta ar EMT attīstību KRV (Fabregat, Malfettone et al., 2016), un šobrīd tiek pētītas ar to saistītās ārstēšanas iespējas (Xu, Zhang et al., 2019). Neskatoties uz plašajām zināšanām par CD44, E-kadherīnu, N-kadherīnu un β-katenīnu, to mijiedarbība ar lokālu iekaisumu līdz šim nav plaši pētīta.

Audzēja heterogenitāte ir viens no faktoriem, kas var ietekmēt terapijas efektivitāti, un tā ir aprakstīta ne tikai KRV (Zlatian, Comanescu et al., 2015; Molinari, Marisi et al., 2018), bet arī citos audzējos (Prince, Sivanandan et al., 2007). Heterogenitāte KRV ir izteiktāka audzējos, kam raksturīga mikrosatelītu nestabilitāte (MSI), nevis mikrosatelītu stabilos (MSS) audzējos (de Smedt, Lemahieu et al., 2015; McCarthy, Capo-Chichi et al., 2019). Attiecīgi izmaiņas DNS labotājgēnu (MMR) proteīnos, kas ir konstatētas imūnhistoķīmiski (IHĶ), varētu kalpot par pazīmi, lai veiktu DNS sekvencēšanu un noteiktu pacientam piemērotu terapiju.

Dažos pētījumos ir rasta saistība starp iekaisuma reakciju un EMT raksturīgajām audu izmaiņām (Witschen, Chaffee et al., 2020). Neņemot to vērā, pētījumu rezultāti ir strīdīgi, jo tikai daži pētījumi tieši ir pievērsušies EMT, iekaisuma, cilmes šūnu un MMR proteīnu savstarpējo attiecību pētījumiem KRV.

Šī **pētījuma mērķis** ir izpētīt peritumoroza iekaisuma un zināmo KRV morfoloģisko prognostisko kritēriju, tostarp lokālās izplatības (pT), limfmezglu statusa (pN), kā arī lokālo invāziju saistību ar EMT molekulārajiem parametriem, cilmes šūnu marķieriem un MMR proteīnu ekspresiju.

Lai sasniegtu šo mērķi, ir izvirzīti šādi uzdevumi:

1. Apkopot KRV pacientu demogrāfiskos datus, kā arī makroskopisko atradi, precizēt KRV morfoloģisko raksturojumu pēc pTNM, diferenciācijas pakāpes, lokālo struktūru invāzijām, sinhrona audzēja veida un aprēķināt KRV tilpumu.
2. Imūnhistoķīmiski izvērtēt KRV molekulāros parametrus, analizējot EMT un cilmes šūnu marķieru ekspresijas intensitāti.

3. Novērtēt peritumorozā iekaisuma un Krona slimībai līdzīgo limfoīdo reakciju (CLR) KRV audos, kā arī imūnhistoķīmiski izvērtēt CD8+ T limfocītu skaitu KRV.
4. Raksturot imūnhistoķīmisko MMR proteīnu ekspresiju KRV audos.
5. Analizēt klīnisko, morfoloģisko un molekulāro parametru savstarpējo saistību KRV audos.

Zinātniskie pieņēmumi jeb darba hipotēzes

1. Lokālam iekaisumam ir nozīmīga loma KRV progresijā.
2. DNS labotājgēnu proteīniem (MSH2, MSH6, PMS2, MLH1) potenciāli ir loma EMT attīstībā.

Darba novitāte

1. Imūnhistoķīmiski pētījuma grupā CD44 ekspresija nekorelē ar iekaisuma intensitāti atšķirībā no iepriekšējiem pētījumiem ar šūnu kultūrām.
2. Šis pētījums ir viens no pirmajiem kompleksajiem pētījumiem, kas apraksta saistību starp audzēja cilmes šūnām, EMT un iekaisumu cilvēka KRV audos, kā arī norāda uz imūnās sistēmas, respektīvi, eozinofilo leikocītu iespējamo lomu pretaudzēja imunitātē.
3. Kompleksa pieeja cilvēka audu pētījumos atklāj nozīmīgas kopsakarības, kas atšķiras no lineārajiem šūnu kultūru pētījumiem.

Personīgais ieguldījums

Autore ir veikusi visas pētījuma stadijas, tostarp pētījuma plānojumu un imūnhistoķīmisko marķieru izvēli, zinātnisko datu ieguvi un statistisko analīzi. Autore veica arī imūnhistoķīmisko vizualizāciju un ir darbā iekļauto makroskopisko un mikroskopisko attēlu autore.

Ētiskie apsvērumi

Pētījums ir veikts saskaņā ar Helsinku deklarāciju un Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas atļauju.

1. Materiāli un metodes

1.1. Pētījuma uzbūve

Pētījums ir veikts kā retrospektīvs, secīgi potenciāli radikāli operētu KRV morfoloģisks un imūnhistoķīmisks raksturojums. Pētījums ir veikts saskaņā ar Helsinku deklarāciju un Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komitejas atļauju.

1.2. Pacientu atlase

Pētījumā ir iekļauti 553 secīgi operēti KRV gadījumi, kas tika atlasīti klīniskās universitātes slimnīcā laika periodā no 2011. gada janvāra līdz 2014. gada decembrim. Pētījumā ir iekļauti potenciāli radikāli operēti KRV gadījumi ar diagnozi "kolorektāls vēzis" (histoloģiskie tipi: adenokarcinoma, mucinozs vēzis, medulāra karcinoma, gredzenšūnu vēzis, nediferencēta karcinoma). Kolorektālie audzēji ar cita veida histoģenēzi, citu audzēju metastāzes zarnā, kā arī gadījumi, kad netika veikta radikāla operācija (biopsijas) vai identificēta tikai intramukozāla karcinoma (pTis), tika izslēgti no pētījuma grupas.

Demogrāfiskie dati (vecums, dzimums), perforācijas esība, sinhrona KRV (sKRV), kā arī operācijas veids un operācijas puse tika iegūti no slimības vēsturēm un operācijas materiāla nosūtījuma pavadzīmēm.

Morfoloģiskie dati par audzēja makroskopisko izskatu un izmēru tika iegūti no patologhistoloģiskajiem atzinumiem. Mikroskopiskā verifikācija tika veikta, lai izvērtētu pētāmos parametrus un veiktu mērījumus.

1.3. Makroskopiskās izmeklēšanas izvērtēšana

Makroskopiskā izmeklēšana iekļāva visu iesūtīto orgānu, audzēja un limfmezglu izvērtējumu pēc šādas shēmas:

1. Ķirurģiskais materiāls tika raksturots, aprakstot un izmērot trīs dimensijās katru izņemto orgānu (tievās un resnās zarnas, mezenteriālos taukaudus, omentu, anālo kanālu, citus).
2. Audzēja izmēra un makroskopiskā izskata izvērtējums.
3. Limfmezglu un mezenteriālo taukaudu izvērtējums.

Makroskopiskā izmeklēšanas dati bija pamats, lai izvērtētu KRV lokalizācijas vietu, pTN, histoloģisko tipu, kā arī aprēķinātu audzēja tilpumu.

1.4. Audu apstrāde un mikroskopiskā izmeklēšana

Makroskopiskās izmeklēšanas laikā iegūtie audu paraugi tika fiksēti neitrālā buferētā 10 % formalīnā (Sigma-Aldrich, Sentluisa (*Saint Louis*), Amerikas Savienotās Valstis (ASV)) un secīgi inkubēti pieaugošas koncentrācijas 2-propanolā (Sigma-Aldrich), Histograde ksilolā (J. T. Baker, Deventera (*Deventer*), Nīderlande) un paraplastā (Diapath S.r.l., Bergāmo (*Bergamo*), Itālija), veicot šo apstrādi vakuuma infiltrācijas procesorā *Tissue-Tek*® VIP™ 5 (Sakura Seiki Co., Ltd., Nagano, Japāna). Apstrādātie audi tika ieguldīti paraplastā (Diapath S.r.l.) izmantojot ieguldīšanas sistēmu TES 99 (*Medite GmbH*, Burgdorfa (*Burgdorf*), Vācija). Parafīna blokos ieguldītie audu paraugi tika sagriezti četrus mikronus biezos griezumos ar mikrotomu *Microm* HM 360 (*Thermo Fisher Scientific*, Inc., Volthema (*Waltham*), ASV) un uztverti uz priekšmetstikliem (Menzel-Glaser, Braunšveiga (*Braunschweig*), Vācija). Griezumi tika krāsoti ar hematoksilīnu un eozīnu audu krāsojamajā automātā TST 44 (Medite Medizintechnik, Burgdorfa, Vācija) un pārklāti ar segstikliņu (Biosigma, Kona (*Cona*), Itālija), izmantojot automatizētu segstikliņu pārklājēju

(Dako, Glostrupa (*Glostrup*), Dānija) un *Pertex* līmi (Histolab, Gēteborga, Zviedrija).

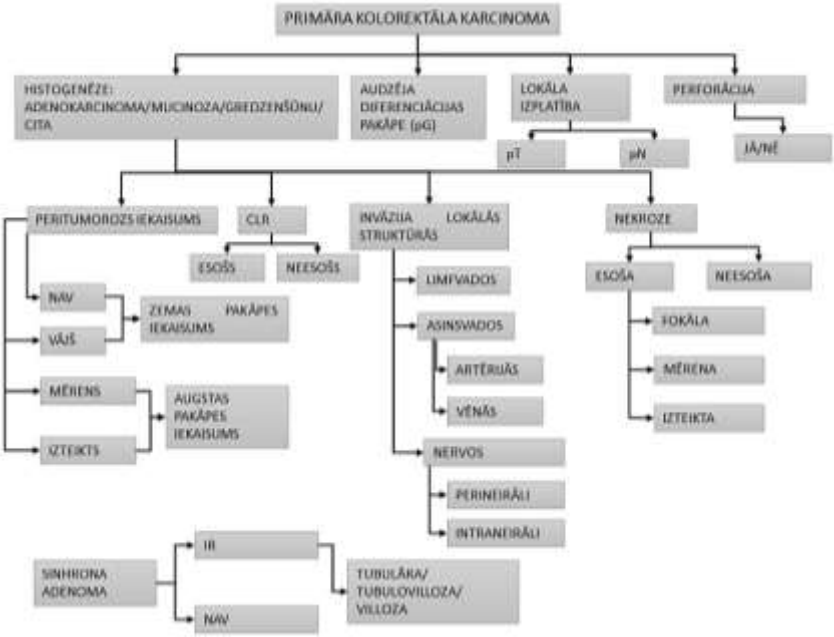
Ar hematoksilīnu un eozīnu krāsotie mikropreparāti tika izvērtēti gaismas mikroskopā, lai iegūtu datus par primārā un sinhronā audzēja histoloģisko tipu, izvērtētu audzēju pēc pTNM klasifikācijas (pT par lokālo audzēja izplatību: T1-T4; pN par reģionālo limfmezglu metastāzēm: N0, N1a, N1b, N1c, N2, Nx; pM par attālo metastāžu esību M0, M1, ja informācija ir pieejama), audzēja diferenciācijas pakāpi, kā arī intravaskulārās (arteriālās un venozās) invāzijas, peri- un intraneirālās invāzijas, invāzijas limfvados esību, kā arī audzēja nekrozi, stromas desmoplāziju, peritumorozo iekaisuma reakciju un CLR audzējā.

Peri- un intraneirālā audzēja invāzija, kā arī intravaskulārā un invāzija limfvados tika novērtēta kā kategoriskais mainīgais: novēro vai nenovēro. Audzēja nekrozes izplatība tika vērtēta kā nekrotiskā apvidus relatīvais plašums (%) visos audzēja mikropreparātos, kā iepriekš ir demonstrējis *Väyrynen* et al. (Väyrynen, Väyrynen et al., 2016). Tālāk nekrozes klātesamība tika iedalīta trijās kategorijās: fokāla, vidēja un plaša.

Audzēja tilpums tika aprēķināts, izmantojot elipsveida formulu (Tirumani, Shinagare et al., 2016).

Peritumorozs iekaisums tika izvērtēts saskaņā ar Klintrupa–Mekinena (*Klintrup-Mäkinen*) skalu, identificējot četras grupas: neesošs iekaisums, vājš, vidējs vai izteikts iekaisuma infiltrāts, kas tālāk tika iedalīts divās apakšgrupās: zema blīvuma iekaisums (vājš vai neesošs) un augsta blīvuma iekaisums (vidējs un izteikts) (Klintrup, Mäkinen et al., 2005). Krona slimībai līdzīgā limfoīdā reakcija (CLR) tika izvērtēta saskaņā ar Veirinena (*Väyrynen*) kritērijiem, saskaitot CLR limfoīdos folikulus audzēja invāzijas frontē, un tika definēts kā CLR blīvums (Väyrynen, Tuomisto et al., 2013).

Pētījumā iekļauto mikroskopiskās izmeklēšanas un izvērtēto parametru shēma ir redzama 1.1. attēlā.



1.1. attēls. **Mikroskopiskās izvērtēšanas parametri pētījumā**

Shēma: I. Briede.

1.5. Imūnhistoķīmiskā vizualizācija un izvērtēšana

Pētāmo antigēnu imūnhistoķīmiskā vizualizācija tika veikta formalīnā fiksētos, parafīnā ieguldītos audzēja audos un kontroles audos bez neoplāzijas. IHĶ tika veikta 124 secīgos KRV gadījumos, katra gadījuma ietvaros tika identificēts viens reprezentatīvs parafīnā ieguldītu audu bloks.

IHĶ mērķiem tika sagatavoti trīs mikrometru biezi griezumi uz elektrostatiski uzlādēta priekšmetstikla (Histobond, Marienfelde (*Marienfeld*), Vācija), un audi tika pakļauti deparafinizācijai graduētā spirta šķīdumā

(Sigma-Aldrich) un Histograde ksilolā (J. T. Baker). Termāla antigēna struktūras atjaunošana tika veikta mikroviļņu krāsnī (3 x 5 min.), izmantojot bāzisku TEG (pH 9,0) buferi (DAKO). Pēc endogēnās peroksidāzes bloķēšanas (Sigma-Aldrich) griezumi tika inkubēti ar primāro antivielu istabas temperatūrā magnētiskā inkubatora kamerā. Lietotās primārās antivielas klonalitāte, sugas izcelsme, sugas specifiskums, darba atšķaidījums un inkubācijas laiks ir minēti 1.1. tabulā. Piesaistītās primārās antivielas tika noteiktas ar polimēru vizualizācijas sistēmu EnVision, kas tika konjugēta ar peroksidāzi. Kā hromogēns tika izmantots 3,3'-diamīnbenzidīns. Pēc vizualizācijas audu griezumi tika segti ar segstikliņu (Biosigma). Visi IHĶ reaģenti ir ražoti DAKO, Glostrupā, Dānijā. Veiktas pozitīvas un negatīvas kvalitātes kontrolreakcijas, gūstot adekvātus rezultātus.

1.1. tabula

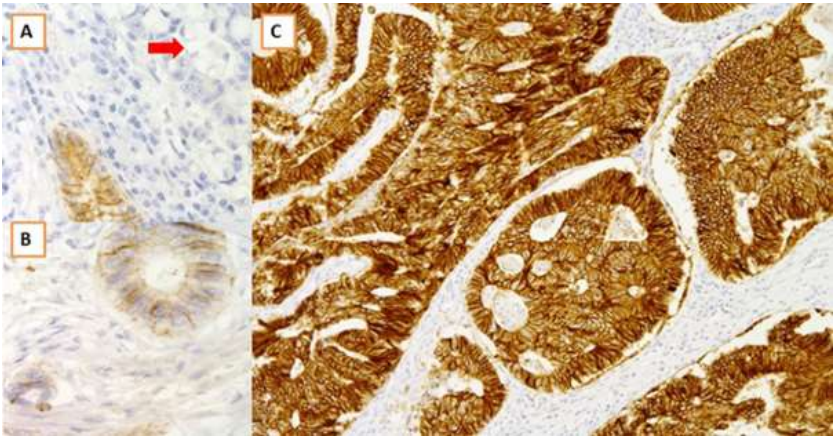
Primāro antivielu paneļa raksturojums

Antigēns	Antivielas raksturojums	Klons	Atšķaidījums	Inkubācija, min.	Ekspresijas veids
E-kadherīns	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	NCH-38	1:50	60	Membranozs
Vimentīns	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	Vim 3B4	1:200	60	Membranozs
CD44	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	DF1485	1:50	60	Membranozs
β-katenīns	Monoklonāla truša Av pret cilvēka Ag	β-catenin-1	1:50	60	Membranozs
N-kadherīns	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	6G11	1:50	60	Membranozs
CD8	Monoklonāla truša Av pret cilvēka Ag	C8/144B	1:50	60	Intranukleārs

1.1. tabulas turpinājums

Antigēns	Antivielas raksturojums	Klons	Atšķaidījums	Inkubācija, min.	Ekspresijas veids
DNS labotājgēnu proteīni					
MSH2	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	FE11	1:100	20	Intranukleārs
MSH6	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	EP49	1:100	20	Intranukleārs
MLH1	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	ES05	1:50	20	Intranukleārs
PMS2	Monoklonāla peles Av pret cilvēka Ag	EP51	1:40	30	Intranukleārs

Imūnhistoķīmisko marķieru ekspresija tika izvērtēta gaismas mikroskopā, izmantojot augsta palielinājuma redzes lauku 400x (t. i., 40× objektīvu un 10× okulārās lēcas; laukums 0,65 mm2). IHĶ marķieru – E-kadherīna, vimentīna, N-kadherīna, β-katenīna un CD44, kā arī MMR proteīnu – ekspresija tika novērtēta gan pēc intensitātes, gan apjoma. Izteiksmes intensitāte tika novērtēta skalā no 0 līdz 3: 0 nozīmē, ka nav izpausmes, 1 – vāja, 2 – mērena un 3 – spēcīga izteiksme (1.2. attēls). Relatīvais apjoms (%) tika mērīts kā vēža šūnu daļa, kas ekspresē doto marķieri noteiktā intensitātē. Galīgais IHĶ rezultāts tika aprēķināts kā intensitātes un relatīvā apjoma matemātisko produktu summa. MMR proteīnu ekspresija tika pārklasificēta kā zema pret augstu, izmantojot vidējo vērtību kā robežvērtību: 1,39 MSH2; 1,9 MSH6; 1,8 PMS2; un 1,43 MLH1. Turklāt MMR proteīnu ekspresija tika novērtēta arī kā bināri mainīgie(esošs pret neesošu).



1.2. attēls. **IHĶ marķieru ekspresijas novērtēšana**

A – E-kadherīna ekspresijas zudums KRV, 400×; B – vāja E-kadherīna ekspresija KRV audos, 400×; C – izteikta E-kadherīna ekspresija KRV, 100×.

Fotoattēls: I. Briede.

CD8+ T limfocītu skaits tika izvērtēts, saskaitot to daudzumu Diapath programmā uz mm2, izvērtējot to daudzumu audzēja centrā (intratumorāli (IT)) un audzēja robežā ar veselajiem audiem (peritumorozi (PT)), kā iepriekš ir demonstrējis *Ueno* et al. un *Lea* et al. (Ueno, Shinto et al., 2014; Lea, Watson et al., 2021).

1.6. Statistiskā analīze

Statistiskā analīze tika veikta, izmantojot IBM SPSS Statistics Version 22.0 statistikas programmatūras pakotni (*International Business Machines Corp*., *Armonk,* Ņujorka, ASV). Normalitātes pieņēmuma pārbaude tika veikta ar Šapiro–Vilka (*Shapiro-Wilk)* testu. Aprakstošie dati tika izteikti kā vidējā vērtība ± standartnovirze (SD), mediāna ar starpkvartiļu diapazonu (IQR) vai relatīvais biežums ar 95 % ticamības intervālu (TI). Kategoriskos datus raksturoja biežums. Vidējām vērtībām un frekvencēm tika noteikti 95 % TI.

Analītiskajai statistikai tika izmantotas neparametriskās metodes, tostarp Manna–Vitnija tests, Spīrmena ranga korelācija un Pīrsona hī kvadrāts. Lai noteiktu atšķirības starp trim vai vairākām grupām, tika izmantota Kraskela–Vollisa (*Kruskal-Wallis*) vienvirziena dispersijas analīze pa rangiem, kam sekoja *post-hoc* analīze ar Bonferroni korekciju. Vērtība $p < 0,05$ tika uzskatīta par statistiski nozīmīgu.

2. Rezultāti

2.1. Pacientu un ķirurģisko datu apraksts

2.1.1. Pētījuma grupas raksturojums

Kopumā pētījumā tika iekļauti 553 secīgi primārā kolorektālā vēža gadījumi, kas tika iegūti no patoloģijas izmeklējumu ziņojumiem no 2011. līdz 2014. gadam. Pētījumā tika iekļauti 258 jeb 46,6 % (95 % TI: 42,5–50,8) vīrieši un 295 jeb 53,4 % (49,2–57,5) sievietes. Pacientu vecums bija no 33 līdz 97 gadiem. Vidējais vecums ± standartnovirze (SD) bija 68,8 ± 10,8 (95 % TI: 67,9–69,7), vidējais vecums 71 (IQR, 15) gads visā pētījuma grupā. Lielākā daļa pacientu bija gados vecāki cilvēki: 93,0 % (95 % TI: 90,5–94,8) no tiem bija vecāki par 50 gadiem. Tikai 39/553 gadījumos pacienti bija jaunāki par 50 gadiem, tostarp 18/39 (46,2 % (31,6–61,4)) vīrieši un 21/39 (53,8 % (38,6–68,4)) sievietes.

2.1.2. Makroskopiskās izmeklēšanas atrade

KRV pārsvarā tika konstatēts resnās zarnas kreisajā daļā, kur tas tika novērots 392 gadījumos jeb 70,9 % (67,0–74,5). Pacientiem, kuri bija jaunāki par 50 gadiem, kreisās puses audzēji bija 31/39 gadījumos jeb 79,5 % (64,5–89,2).

23/553 (4,2 % (2,8–6,2)) gadījumos tika konstatēts sinhrons KRV (sKRV), un statistiski ticami ($p < 0,01$) tas biežāk tika konstatēts kreisās puses audzējos – 18/23 (78,3 %) (58,1–90,3)). Attiecībā uz pacientu vecuma grupu un sKRV esību tika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība ($p = 0,04$), jo jauniem pacientiem sKRV tika konstatēts biežāk.

155/553 (28,0 % (24,4–31,9)) KRV gadījumos operācijas materiālā tika konstatēta sinhrona adenoma. Histoloģiski lielākā daļa sinhrono adenomu bija tubulāras morfoloģijas, veidojot 82/155 (52,9 % (45,1–60,6)), savukārt villozas

adenomas tika konstatētas 26/155 (16,8 % (11,7–23,4)) gadījumos un tubulovillozas – 46/155 (46/15) 29,7 % (23,1–37,3) gadījumos.

Pamatojoties uz dotajiem audzēja izmēriem, tika aprēķināts audzēja tilpums. Kopumā izmeklējuma protokolos precīzi audzēja izmēri bija norādīti 525 (94,9 % (92,8–96,5)) gadījumos ar vidējo izmēru 23,8 (19,7–27,8) cm^3. Tika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība ($p < 0,01$) audzēju izmērā starp labās puses audzējiem, kur vidējais izmērs bija 29,4 (23,0–35,9) cm^3, un kreisās puses audzējiem, kur vidējais audzēja izmērs bija 21,4 (16,3–26,5) cm^3. Netika konstatētas statistiski nozīmīgas atšķirības starp audzējiem atkarībā no pacientu dzimuma ($p = 0,41$) vai vecuma ($p = 0,75$).

Kopējais KRV apraksts atklāja cirkulāra audzēja klātbūtni 256/524 jeb 48,8 % (44,6–53,1) gadījumu un uzrādīja statistiski nozīmīgu atšķirību ($p < 0,05$) biežumā starp labo (64 (25,0 % (20,1–30,7))) un kreiso (192 (75,0 % (69,3–79,9)) pusi.

Perforācija tika novērota 38/553 (6,9 % (5,0–9,3)) gadījumos, un tā statistiski ticami ($p < 0,01$) biežāk bija sastopama kreisās puses audzējos – 29/38 (76,3 % (60,8–87,0)) gadījumu.

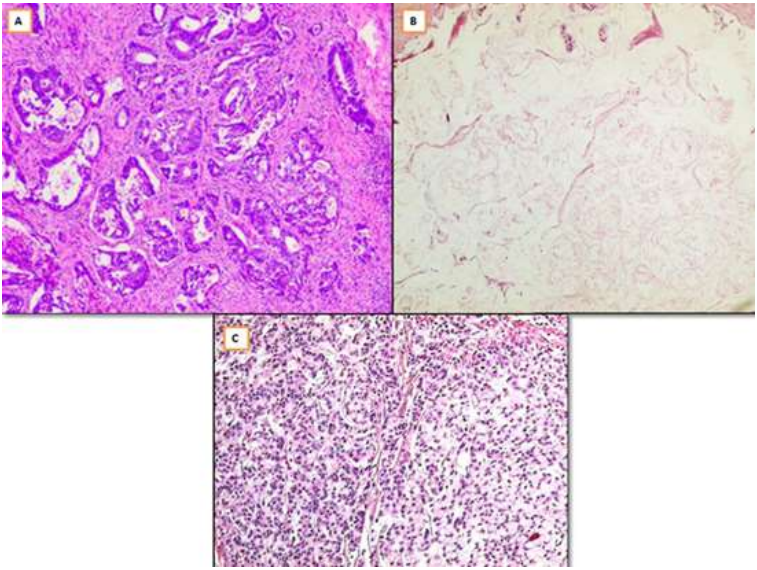
2.2. Morfoloģija

2.2.1. Primārā KRV raksturojums

Kolorektāla adenokarcinoma (2.1.A attēls) tika konstatēta 88,8 % (85,9–91,2), mucinoza adenokarcinoma (2.1.B attēls) – 9,6 % (7,4–12,3), bet primāra gredzenveida šūnu karcinoma (2.1.C attēls) 1,2 % (0,6–2,6) gadījumu.

Audzēja tilpums statistiski nozīmīgi atšķīrās ($p < 0,01$) dažādas histoģenēzes audzējos. Vidējais audzēja tilpums kolorektālā adenokarcinomā bija 21,0 (17,4–24,6) cm^3, mucinozā karcinomā 45,3 (20,9–69,6) cm^3, savukārt gredzenšūnu karcinomas gadījumā 26,8 (4,2–49,4) cm^3.

Novērtējot T parametru, dominēja lokāli progresējoši audzēji: pT3 karcinoma veidoja 49,6 % (45,4–53,7) un pT4 – 35,6 % (31,7–39,7) gadījumu. Pēc diferenciācijas pakāpes vidēji diferencēts (G2) vēzis bija sastopams 64,0 % (59,9–67,9) pētījuma grupas, un zemas diferenciācijas pakāpes (G3) karcinoma tika konstatēta 25,7 % (22,2–29,5) gadījumu.



2.1. attēls. **KRV morfoloģija pētījumā**

A – vidēji diferencēta kolorektāla adenokarcinoma, HE, 400×; B – mucinoza karcinoma, HE, 100×; C – gredzenveida šūnu karcinoma, HE, 100×.

Audzēja metastāzes limfmezglos (pN+) tika konstatētas 224 KRV gadījumos jeb 40,5 % (36,5–44,6) pacientu. 56 gadījumos (10,1 % (7,9–12,9)) mezenteriālajos vai perirektālajos taukaudos tika konstatēti tikai audzēju mezgliņi (pN1c). Vidējais izmeklēto limfmezglu skaits bija 11 (IQR, 8). Kopsavilkums par pTN un KRV diferenciācijas pakāpi ir apkopots 2.1. tabulā.

2.1. tabula

pT, pG un limfmezglu statusa raksturojums pētījuma grupā

Mainīgais lielums	Skaits	Proporcija, %	95 % TI
pT			
pT1	16	2,9	1,8–4,6
pT2	66	11,9	9,5–14,9
pT3	274	49,6	45,4–53,7
pT4	197	35,6	31,7–39,7
pN			
pN0	273	49,4	45,2–53,5
pN1	156	28,2	24,6–32,1
pN1c	56	10,1	7,9–12,9
pN2	68	12,3	9,8–15,3
pG			
G1	56	10,1	7,9–12,9
G2	354	64,0	59,9–67,9
G3	142	25,7	22,2–29,5
G4	1	0,2	0,0–1,0

Audzēji ar zemu diferenciāciju (pG3) uzrādīja statistiski nozīmīgu saistību ($p < 0,01$) ar audzēja tilpumu, salīdzinot ar vidēji un labi diferencētiem audzējiem, jo vidējais pG3 tilpums bija 36,8 (25,0–48,6) cm^3, bet pG1 14,6 (7,4–21,8) un pG2 20,1 (16,1–24,2) cm^3.

Tika konstatēta arī statistiski nozīmīga atšķirība starp audzēju tilpumu un pT kreisās puses audzēju gadījumā ($p < 0,01$): pT3 un pT4 audzējus raksturoja lielāks audzēja tilpums. Rezultāti ir apkopoti 2.2. tabulā.

Pētījuma grupā kolorektāla adenokarcinoma galvenokārt tika konstatēta pT3. stadijā – 249/491 (50,7 % (46,3–55,1)) un pT4. stadijā – 166/491 (33,8 (29,7–38,1)). Gredzenveida šūnu karcinoma galvenokārt tika diagnosticēta pT4 (6/7) stadijā (85,7 (48,7–97,4)), kas liecina par tās agresīvo augšanu.

Visā pētījuma grupā audzēja invāzija limfvados tika konstatēta 352 gadījumos jeb 63,6 % (59,6–67,5). Perineirāla augšana tika atklāta 50,1 % (45,9–54,2), bet intraneirāla augšana 31,1 % (27,4–35,1) gadījumu. Netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība ($p > 0,05$) starp dažādas histoģenēzes audzējiem un limfātisko, intravenozo, perineirālo un intraneirālo invāziju.

2.2. tabula

KRV tilpuma atšķirības pēc operācijas puses un pT

pT	Vidējais audzēja tilpums, cm^3; 95 % TI			
	Labā puse	**p**	**Kreisā puse**	**p**
pT1	39,82 [0,0–120,47]	0,051	11,11 [0,0–23,24]	**0,006**
pT2	11,93 [4,03–19,8]		8,76 [6,12–11,39]	
pT3	30,56 [20,68–40,44]		23,35 [15,27–31,43]	
pT4	29,41 [21,74–37,07]		24,42 [15,32–33,52]	

Kopumā audzēja nekroze tika konstatēta 295 gadījumos, un lielākajā daļā karcinomu tika novērota mērena nekroze, kas bija sastopama 146 KRV gadījumos (49,5 % (43,8–55,2) audzēju ar jebkuras pakāpes nekrozi), savukārt tikai 45 (15,3 % (11,6–19,8)) KRV gadījumos tika novērots plašs nekrozes apjoms. Vidējais nekrozes plašums uzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības attiecībā uz pT ($p = 0,04$), pN ($p = 0,02$) un pG ($p < 0,01$), tā kā izteiktāka nekroze tika konstatēta audzējiem ar augstāku pT un zemāku diferenciāciju. Pilni rezultāti ir atspoguļoti 2.3. tabulā. Audzēja perforācija neuzrādīja saistību ar nekrozes apjomu vai tās klātbūtni ($p = 0,33$). Tāpat nebija statistiski nozīmīgas atšķirības nekrozes apmērā un KRV histoģenēzē.

2.3. tabula

Nekrozes plašums (%) KRV un tās saistība ar pT, pN un pG

Parametrs	%	95 %TI	p
pT			
pT1	12,5	0,0–107,8	**0,04**
pT2	9,6	6,1–13,1	
pT3	14,5	12,5–16,4	
pT4	16,6	13,9–19,4	
pN			
pN0	12,8	10,7–14,8	**0,02**
pN+	16,7	14,2–19,2	
pG			
pG1	9,3	5,2–13,3	**0,004**
pG2	13,4	11,8–15,0	
pG3	19,9	16,1–23,7	

2.2.2. Peritumorozā iekaisuma raksturojums

Iekaisuma reakcijas analīze peritumorozajos audos uzrādīja vāju iekaisuma reakciju 240/553 un pilnīgu iekaisuma reakcijas neesību 52/553 gadījumos. Pēc Klintrupa-Makinena skalas šie gadījumi tika klasificēti kā zemas pakāpes iekaisums un tika novēroti 292 jeb 52,8 % (48,6–56,9) gadījumu. Augstas pakāpes iekaisums (iekļauj 204/553 vidēji smaga un 57/553 smaga iekaisuma gadījumus) kopumā tika novērots 261 jeb 47,2 % (43,1–51,4) gadījumu. Šīs grupas neuzrādīja statistiski nozīmīgas vecuma atšķirības ($p = 0,13$). Pacientu ar zemas pakāpes iekaisumu vidējais vecums bija 68,1 ± 10,6 gadi (66,9–69,3), un 69,6 ± 11,0 gadiem (68,2–70,9) pacientiem, kuriem tika konstatēts augstas pakāpes peritumorozs iekaisums.

Attiecībā uz audzēja tilpumu statistiski nozīmīga atšķirība ($p = 0,46$) netika konstatēta audzējiem ar augstas pakāpes (23,6 (18,3–28,8) cm^3) un zemas pakāpes iekaisumu (23,9 (17,9–30,0) cm^3).

Tika konstatētas statistiski nozīmīgas atšķirības (2.4. tabula) attiecībā uz pT sadalījumu ($p = 0,002$) un pN ($p < 0,001$) saistībā ar zemas un augstas pakāpes peritumorozo iekaisumu, bet netika konstatēta statistiski ticama atšķirība starp iekaisuma pakāpi un pG ($p = 0,07$).

2.4. tabula

pT, pN un pG saistība ar iekaisumu

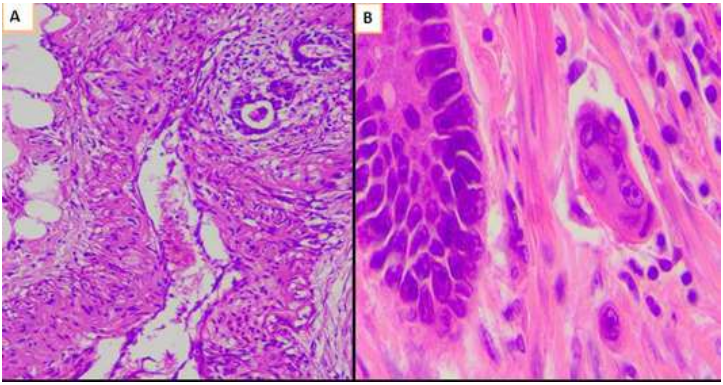
Parametrs	Zemas pakāpes iekaisums		Augstas pakāpes iekaisums		p
	Skaits	Biežums, % [95 % TI]	Skaits	Biežums, % [95 % TI]	
pT					
pT1	6	2,1 [0,9–4,4]	10	3,8 [2,1–6,9]	**0,002**
pT2	29	9,9 [7,0–13,9]	37	14,2 [10,5–18,9]	
pT3	132	45,2 [39,6–50,9]	142	54,4 [48,3–60,3]	
pT4	125	42,8 [37,3–48,5]	72	27,6 [22,5–33,3]	

2.4. tabulas turpinājums

Parametrs	Zemas pakāpes iekaisums		Augstas pakāpes iekaisums		p
	Skaits	Biežums, % [95 % TI]	Skaits	Biežums, % [95 % TI]	
pN					
pN0	118	40,4 [34,9–46,1]	155	59,4 [53,3–65,2]	**< 0,001**
pN+	174	59,6 [53,9–65,1]	106	40,6 [34,8–46,7]	
pG					
G1	26	8,9 [6,1–12,8]	30	10,3 [7,3–14,3]	0,07
G2	178	61,0 [55,3–66,4]	176	60,3 [54,6–65,7]	
G3	87	29,8 [24,8–35,3]	55	18,8 [14,8–23,7]	
G4	1	0,3 [0,0–2,1]	0	0,0 [0,0–1,6]	

Izvērtējot invazīvās augšanas morfoloģiskās izpausmes, audzējiem, ko ieskauj zemas pakāpes peritumorozs iekaisums, ievērojami biežāk tika novērota invāzija limfvados (2.2. attēls) (p = 0,003) (69,9 % (64,4–74,8) pret 56,7 (50,6–62,6) augstas pakāpes iekaisumā), kā arī intraarteriāla (p = 0,012) (5,1 % (3,1–8,3) pret 1,5 % (0,6–3,9)), intravenoza (p = 0,017) (26,4 % (21,6–31,7) pret 19,2 % (1,8–24,4)), perineirāla (p = 0,001) (57,2 % (51,5–62,7) pret 42,1 % (36,3–48,2)) (2.3. attēls) un intraneirāla (p = 0,01) (35,3 % (30,0–40,9) pret 26,5–3,5) invāzija.

Iekaisuma pakāpe statistiski nozīmīgi neatšķīrās starp labās un kreisās puses KRV (p = 0,18), kā arī pēc audzēja nekrozes klātbūtnes (p = 0,63) vai apjoma (p = 0,11).



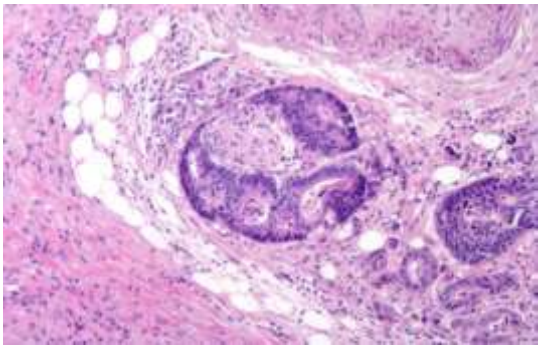
2.2. attēls. **KRV lokāla invāzija zemas pakāpes peritumoroza iekaisuma gadījumā**

A – invāzija artērijas sienā, bez audzēja kompleksiem tās lūmenā, HE, 100×;

B – audzēja kompleksi limfvadā, HE, 400×.

CLR konstatēja 193/553 (34,9 % (31,0–39,0)) gadījumos. Lielākajai daļai (165/193 (85,5 % (79,8–89,7))) šo audzēju bija zems limfoīdo folikulu blīvums.

Netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība CLR blīvuma sadalījumā saistībā ar KRV lokalizāciju (resnās zarnas labā un kreisā puse), pT, pN, pG vai saistībā ar audzēja invāziju apkārtējās struktūrās ($p > 0,05$).



2.3. attēls. **Perineirāla KRV augšana zemas pakāpes iekaisuma gadījumā, HE, 100×**

Turpretim statistiski nozīmīgas atšķirības tika konstatētas, vērtējot CLR klātbūtni un neesību attiecībā uz invazīvās augšanas izpausmēm (2.5. tabula).

2.5. tabula

CLR reakcijas un lokālo invāziju saistība KRV

Invāzija	Gadījumu skaits; biežums, % [95 % TI]		p
	CLR esošs	CLR neesošs	
Limfvados	110 56,9 [49,9–63,8]	242 67,2 [62,2–71,9]	**< 0,001**
Perineirāla	85 44,0 [37,2–51,1]	192 53,3 [48,2–58,4]	**< 0,001**
Intraneirāla	47 27,3 [21,2–34,3]	125 72,7 [65,6–78,8]	**< 0,001**
Intravenoza	31 24,4 [17,8–32,6]	96 75,6 [67,4–82,2]	**< 0,001**

Iekaisuma šūnu apakšpopulāciju analīze atklāja vairākas nozīmīgas saistības starp noteiktu audzēju infiltrējošo šūnu blīvumu un KRV invāziju, ko atspoguļoja invazīvās augšanas izpausmes (esošas pret neesību).

Statistiski nozīmīgas atšķirības tika konstatētas neitrofilo leikocītu daudzumā perineirālās (p = 0,04) un limfātiskās (p = 0,01) invāzijas gadījumos (2.6. tabula).

2.6. tabula

Iekaisuma šūnu apakšpopulāciju analīze: neitrofilie leikocīti

Identificētā invāzija	Iekaisuma šūnu blīvums: gadījumu skaits; proporcija, % [95 % TI]				
	Nekonstatē	Vājš	Vidējs	Izteikts	p
Neitrofilie leikocīti					
Perineirāla	202; 72,9 [67,4–77,8]	52; 18,8 [14,6–23,8]	17; 6,1 [3,8–9,7]	6; 2,2 [0,9–4,8]	**0,04**
Intraneirāla	126; 73,3 [66,2–79,3]	32; 18,6 [13,5–25,1]	12; 7,0 [3,9–11,9]	2; 1,2 [0,1–4,4]	0,13
Limfvados	265; 75,3 [70,5–79,5]	57; 16,2 [12,7–20,4]	23; 6,5 [4,4–9,7]	7; 2,0 [0,9–4,1]	**0,01**

2.6. tabulas turpinājums

Identificētā invāzija	Iekaisuma šūnu blīvums: gadījumu skaits; proporcija, % [95 % TI]				
	Nekonstatē	**Vājš**	**Vidējs**	**Izteikts**	**p**
Neitrofīlie leikocīti					
Intravenoza	103; 81,1 [73,4–87,0]	16; 12,6 [7,8–19,6]	4; 3,2 [1,0–8,1]	4; 3,2 [1,0–8,1]	0,27
Intraarteriāla	16; 84,2 [61,6–95,3]	2; 10,5 [1,7–32,6]	0; 0,0 [0,0–19,8]	1; 5,3 [0,0–26,5]	0,48

Limfocītu blīvums atšķīrās audzējiem ar perineirālu invāziju ($p < 0,01$) un invāziju limfvados ($p = 0,03$), bet netika uzrādīta statistiski nozīmīga atšķirība limfocītu daudzumā attiecībā uz asinsvadu invāziju un intraneirālu audzēja augšanu (2.7. tabula.).

2.7. tabula

Iekaisuma šūnu apakšpopulāciju analīze: limfocīti

Identificētā invāzija	Iekaisuma šūnu blīvums: gadījumu skaits; proporcija, % [95 % TI]				
	Nekonstatē	**Vājš**	**Vidējs**	**Izteikts**	**p**
Limfocīti					
Perineirāla	32; 11,6 [8,3–15,9]	147; 53,1 [47,2–58,9]	87; 31,4 [26,2–37,1]	11; 4,0 [2,2–7,1]	**0,003**
Intraneirāla	20; 11,6 [7,6–17,4]	92; 53,5 [46,0–60,8]	53; 30,8 [24,4–38,1]	7; 4,1 [1,8–8,3]	0,052
Limfvados	39; 11,1 [8,2–14,8]	184; 52,3 [47,1–57,4]	115; 32,7 [28,0–37,7]	14; 4,0 [2,3–6,6]	**0,03**
Intravenoza	14; 11,0 [6,6–17,8]	66; 52,0 [43,4–60,5]	43; 33,9 [26,2–42,5]	4; 3,2 [1,0–8,1]	0,88
Intraarteriāla	3; 15,8 [4,7–38,4]	13; 68,4 [45,8–84,8]	3; 15,8 [4,7–38,4]	0; 0,0 [0,0–19,8]	0,09

Eozinofilo leikocītu trūkums bija statistiski nozīmīgi saistīts ar perineirālo invāziju (p = 0,01) un invāziju limfvados (p < 0,01). Pilns eozinofilo leikocītu blīvuma saistības ar lokālo struktūru invāziju kopsavilkums ir atspoguļots 2.8. tabulā.

2.8. tabula

Iekaisuma šūnu apakšpopulāciju analīze: eozinofilie leikocīti

Identificētā invāzija	**Iekaisuma šūnu blīvums: gadījumu skaits; proporcija, % [95 % TI]**				
	Nekonstatē	**Vājš**	**Mērens**	**Izteikts**	**p**
Eozinofilie leikocīti					
Perineirālal	207; 74,7 [69,3–79,5]	64; 23,1 [18,5–28,4]	6; 2,2 [0,9–4,8]	0; 0,0 [0,0–1,7]	**0,01**
Intraneirāla	128; 74,4 [67,4–80,4]	39; 22,7 [17,0–29,5]	5; 2,9 [1,1–6,8]	0; 0,0 [0,0–2,6]	0,31
Limfvados	264; 75,0 [70,2–79,3]	82; 23,3 [19,2–28,0]	6; 1,7 [0,7–3,8]	0; 0,0 [0,0–1,3]	**0,008**
Intravenoza	92; 72,4 [64,1–79,5]	32; 25,2 [18,4–33,4]	3; 2.4 [0,5–7,0]	0; 0,0 [0,0–3,5]	0,21
Intraarteriāla	17; 89,5 [67,4–98,3]	2; 10,5 [1,7–32,6]	0; 0,0 [0,0–19,8]	0; 0,0 [0,0–19,8]	0,36

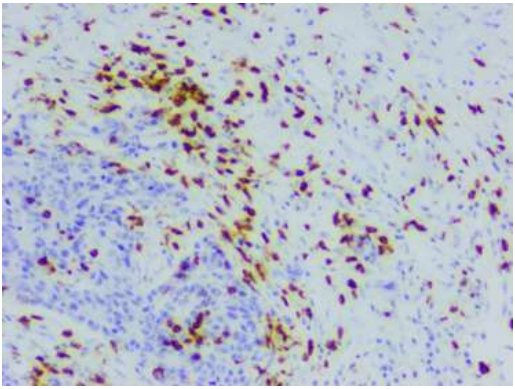
2.3. KRV imūnhistoķīmiskais raksturojums

Imūnhistoķīmiskā izmeklēšana tika veikta 124/553 secīgiem KRV gadījumiem, lai ilustrētu CD8+ citotoksisko šūnu, epiteliāli mezenhimālas transformācijas un DNS labotājgēnu proteīnu klātbūtni pētījuma grupā.

2.3.1. Citotoksiskie T-limfocīti (CD8+)

CD8+ T limfocītu daudzums statistiski nozīmīgi ($p < 0,01$) atšķiras starp audzēja invazīvās robežas jeb peritumorozajiem (PT) un audzēja centra jeb intratumorozajiem (IT) reģioniem. Vidēji PT zonā bija 148 CD8+ šūnas (diapazons no 4 līdz 417) (2.4. attēls), bet IT reģionos – 18 CD8+ šūnas (diapazons: 0–120).

Attiecībā uz audzēja histoloģiju netika konstatētas statistiski nozīmīgas CD8+ daudzuma atšķirības PT ($p = 0,23$) vai IT lokalizācijā ($p = 0,41$).



2.4. attēls. **CD8+ šūnas peritumorozajā reģionā, imūnperoksidāze, 100×**

Tika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība starp PT CD8+ šūnu skaitu audzējiem ar augstāku pT ($p = 0,03$; $r = -0,2$), taču būtiskas atšķirības netika konstatētas attiecībā uz IT CD8+ šūnu skaitu un pT ($p = 0,13$). Tāpat tika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība starp PT CD8+ šūnu daudzumu audzējos ar pN0 un KRV ar pN+ vai atsevišķiem audzēja mezgliem taukaudos ($p = 0,05$). Statistiski būtiska atšķirība starp PT un IT CD8+ šūnām pēc pG netika konstatēta. CD8+ šūnu attiecības ar pT, pN un audzēja diferenciācijas pakāpi ir atspoguļotas 2.9. tabulā.

2.9. tabula

Peritumorozo un intratumorozo CD8+ šūnu skaita atšķirības atkarībā no pT, pN un pG

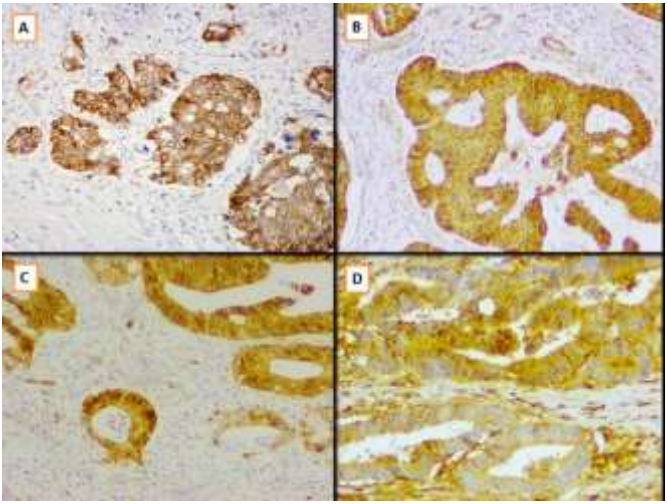
Parametrs	PT CD8+	p	IT CD8+	p
pT				
pT1	198,5 [82,6–314,4]	**0,03**	21,5 [0,0–129,5]	0,13
pT2	153 [111,6–193,6]		26,0 [9,7–42,2]	
pT3	163 [141,5–185,0]		18,4 [12,7–24,1]	
pT4	121 [95,7–146,9]		12,9 [7,0–18,9]	
pN				
pN0	163,2 [140,2–186,2]	**0,05**	20,5 [13,9–27,1]	0,16
pN+	136,6 [113,4–160,0]		15,5 [9,5–21,6]	
pN1c	120,0 [65,8–174,3]		12,4 [5,1–19,7]	
pG				
pG1	100,0 [14,4–186,2]	0,93	12,0 [0,0–50,8]	0,10
pG2	151,6 [132,0–171,2]		15,6 [11,2–19,9]	
pG3	142,3 [114,9–169,8]		22,8 [13,2–32,4]	

Attiecībā uz citotoksisko T šūnu izplatību tika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība starp peritumorozajām CD8 šūnām KRV ar un bez perineirālas (p = 0,02) (attiecīgi 125,2 (103,1–147,3) un 160,2 (139,6–180,8)) un intraneirālas (p = 0,02) (108,6 (69,8–147,3) un 153,8 (137,0–170,6)) invāzijas, taču būtiskas korelācijas ar citu lokālu struktūru invāziju esību netika konstatētas (p > 0,05).

2.3.2. EMT raksturojums pētījuma grupā

EMT raksturošanai KRV tika veikta imūnhistoķīmiska izmeklēšana un tika novērtēta E-kadherīna, N-kadherīna, β-katenīna, vimentīna un CD44 antigēnu ekspresija (2.5. attēls). Kopējais CD44 ekspresijas rādītājs bija 1,34 (1,21–1,47), sasniedzot 1,28 (1,15–1,41) adenokarcinomas gadījumā un 2,00 (1,61–2,38) mucinozas karcinomas gadījumā (p = 0,02). Kopējais E-kadherīna rādītājs bija 1,86 (1,78–1,94): 1,91 (1,83–1,98) adenokarcinomās un 1,48 (1,23–1,73) mucinozās karcinomās (p = 0,001). Kopējais β-katenīna rādītājs bija 2,59 (2,50–2,67): 2,60 (2,50–2,69) adenokarcinomā un 2,69 (2,47–2,92) mucinozā

karcinomā (p = 0,41). N-kadherīna kopējā ekspresija bija 1,74 (1,53–1,92), sasniedzot 1,78 (1,58–1,98) adenokarcinomā un 1,49 (0,55–2,43) mucinozā karcinomā (p = 0,37).



2.5.attēls. **EMT antigēnu imūnhistoķīmiskā aina**

A – E-kadherīna ekspresija KRV, imūnperoksidāze, 40×; B – N-kadherīna ekspresija KRV, imūnperoksidāze 40×; C – β-katenīna heterogēna ekspresija kolorektālā adenokarcinomā, imūnperoksidāze, 100×; D – CD44 heterogēna ekspresija KRV, imūnperoksidāze, 100×.

Imūnhistoķīmiski CD44 ekspresija uzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības starp audzēja lokalizācijas pusēm (p < 0,01): 1,21 (1,07–1,36) kreisajā pusē pret 1,62 (1,38–1,87) labajā pusē, kā arī CD44 ekspresija bija statistiski ticami (p = 0,02) augstāka pN0 karcinomas (1,46 (1,28–1,64)) nekā metastātisku (pN+) (1,18 (0,96–1,39)) audzēju gadījumā. Turpretim CD44 līmenis neatšķīrās pēc sKRV klātbūtnes (p = 0,40), pT (p = 0,23), pG (0,07) vai invazīvas augšanas izpausmēm (p > 0,05), kā arī nebija atšķirību CD44 ekspresijā attiecībā uz iekaisumu. CD44 ekspresijas raksturlielumi atbilstoši iekaisuma pakāpei ir apkopoti 2.10. tabulā.

2.10. tabula

CD44 ekspresijas raksturojums pēc iekaisuma un iekaisuma šūnu apakšpopulāciju blīvuma

Parametrs	CD44		
	Vērtība	95 % TI	p
Iekaisums			
Zemas pakāpes	1,23	1,06–1,40	0,23
Augstas pakāpes	1,42	1,23–1,61	
Neitrofilie leikocīti			
Zemas pakāpes	1,30	1,17–1,44	0,14
Augstas pakāpes	1,55	1,23–1,88	
Eozinofilie leikocīti			
Zemas pakāpes	1,31	1,18–1,44	0,33
Augstas pakāpes	1,58	1,05–2,10	
Limfocīti			
Zemas pakāpes	1,26	1,09–1,42	0,33
Augstas pakāpes	1,40	1,21–1,60	
Makrofāgi			
Zemas pakāpes	1,31	1,14–1,47	0,64
Augstas pakāpes	1,38	1,19–1,57	
CLR (limfoīdo folikulu blīvums uz mm)			
Zemas pakāpes	1,46	1,25–1,67	0,93
Augstas pakāpes	1,42	0,55–2,29	

β-katenīna ekspresija uzrādīja statistiski nozīmīgu atšķirību attiecībā pret pT, uzrādot augstāku ekspresiju lokāli izplatītākos audzējos ($p = 0,007$) 2,92 (2,61–3,24) pT1; 2,64 (2,47–2,81) pT2; 2,65 (2,50–2,80) pT3; 2,47 (2,34–2,60) pT4, tomēr ekspresijas atšķirības netika konstatētas attiecībā uz sKRV ($p = 0,58$), pG ($p = 0,30$), audzēja lokalizācijas pusi ($p = 0,11$), lokālu struktūru invāziju ($p > 0,05$) klātbūtni vai limfmezglu iesaisti (pN) ($p = 0,42$). Interesanti, ka β-katenīna ekspresijas līmeni ietekmēja neitrofilu daudzums, uzrādot zemāku β-katenīna ekspresiju KRV ar zemu neitrofilu daudzumu ($p = 0,001$). 2.11. tabula ilustrē β-katenīna ekspresiju atbilstoši iekaisuma blīvumam.

2.11. tabula

β-katenīna ekspresijas raksturojums pēc iekaisuma un iekaisuma šūnu apakšpopulāciju blīvuma

Parametrs	β-catenin		
	Vērtība	**95 % TI**	**p**
Iekaisums			
Zemas pakāpes	2,65	2,56–2,74	0,88
Augstas pakāpes	2,54	2,39–2,69	
Neitrofilie leikocīti			
Zemas pakāpes	2,56	2,46–2,66	**0,001**
Augstas pakāpes	2,88	2,81–2,94	
Eozinofilie leikocīti			
Zemas pakāpes	2,59	2,49–2,68	0,34
Augstas pakāpes	2,71	2,42–2,99	
Limfocīti			
Zemas pakāpes	2,64	2,55–2,73	0,68
Augstas pakāpes	2,54	2,39–2,70	
Makrofāgi			
Zemas pakāpes	2,60	2,50–2,70	0,51
Augstas pakāpes	2,59	2,40–2,77	
CLR (limfoīdo folikulu blīvums uz mm)			
Zemas pakāpes	2,57	2,42–2,72	0,06
Augstas pakāpes	2,84	2,71–2,97	

N-kadherīna ekspresija statistiski nozīmīgi atšķiras tikai audzējiem ar sKRV (p = 0,03) (0,80 (0,0–2,10)) pret audzējiem bez sKRV (1,80 (1,61–1,99) attiecībā uz pT (p = 0,03) (pT1: 1,10 (0,00–15,1), pT2: 1,87 (1,28–2,45), pT3 1,97 (1,71–2,23), pT4: 1,45 (1,12–1,78)) un eozinofilo leikocītu blīvumu (p = 0,02) (2.12. tabula).

2.12. tabula

N-kadherīna ekspresijas raksturojums pēc iekaisuma un iekaisuma šūnu apakšpopulāciju blīvuma

Parametrs	N-kadherīns		
	Vērtība	**95 % TI**	**p**
Iekaisums			
Zemas pakāpes	1,83	1,56–1,97	0,57
Augstas pakāpes	1,69	1,40–1,98	

2.12. tabulas turpinājums

Parametrs	N-kadherīns		
	Vērtība	**95 % TI**	**p**
Neitrofilie leikocīti			
Zemas pakāpes	1,77	1,56–1,97	0,72
Augstas pakāpes	1,68	1,03–2,32	
Eozinofilie leikocīti			
Zemas pakāpes	1,84	1,65–2,03	**0,02**
Augstas pakāpes	0,66	0,00–1,67	
Limfocīti			
Zemas pakāpes	1,84	1,58–2,09	0,56
Augstas pakāpes	1,67	1,37–1,97	
Makrofāgi			
Zemas pakāpes	1,82	1,60–2,05	0,51
Augstas pakāpes	1,62	1,24–2,00	
CLR (limfoīdo folikulu blīvums uz mm)			
Zemas pakāpes	1,70	1,39–2,02	0,16
Augstas pakāpes	2,40	2,08–2,71	

E-kadherīna ekspresija uzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības dažādās diferenciācijas pakāpēs (pG) KRV (p = 0,001), kur E-kadherīna ekspresijas pazeminināšanās tika novērota zemākas diferenciācijas pakāpes audzējos, kā arī atkarībā no audzēja lokalizācijas puses (p = 0,02) (1,91 (1,82–1,99) kreisās puses KRV pret 1,72 (1,56–1,89) labās puses KRV). Tika konstatētas arī statistiski nozīmīgas atšķirības starp augstu eozinofilo leikocītu blīvumu un E-kadherīna ekspresiju (p = 0,007) (2.13. tabula).

2.13. tabula

E-kadherīna ekspresijas raksturojums pēc iekaisuma un iekaisuma šūnu apakšpopulāciju blīvuma

Parametrs	E-kadherīns		
	Vērtība	**95 % TI**	**p**
Iekaisums			
Zemas pakāpes	1,87	1,76–1,97	0,90
Augstas pakāpes	1,85	1,74–1,96	
Neitrofilie leikocīti			
Zemas pakāpes	1,86	1,77–1,94	0,95
Augstas pakāpes	1,88	0,66–3,11	

2.13. tabulas turpinājums

Parametrs	E-kadherīns		
	Vērtība	95 % TI	p
Eozinofilo leikocīti			
Zemas pakāpes	1,82	1,75–1,90	**0,007**
Augstas pakāpes	2,31	1,88–2,10	
Limfocīti			
Zemas pakāpes	1,85	1,75–1,96	0,85
Augstas pakāpes	1,87	1,75–1,98	
Makrofāgi			
Zemas pakāpes	1,87	1,78–1,96	0,97
Augstas pakāpes	1,84	1,70–1,98	
CLR (limfoīdo folikulu blīvums uz mm)			
Zemas pakāpes	1,84	1,75–1,94	0,38
Augstas pakāpes	1,77	1,38–2,15	

EMT raksturojošo antigēnu ekspresijas savstarpējās korelācijas analīze uzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības β-katenīna un E-kadherīna ($p = 0,018$; $r/rs = 0,22$), kā arī β-katenīna un N-kadherīna ($p = 0,000$; $r/rs = 0,35$) ekspresijā. Netika novērota būtiska korelācija starp CD44 ekspresiju un citiem EMT antigēniem ($p > 0,05$).

EMT antigēnu ekspresija uzrādīja statistiski nozīmīgu krustenisko korelāciju zemas pakāpes iekaisuma gadījumā starp β-katenīna un E-kadherīna ekspresiju ($p = 0,03$; $r/rs = 0,29$), kā arī starp β-katenīna un N-kadherīna ekspresiju ($p < 0,01$); $r/rs = 0,49$). Netika konstatēta statistiski nozīmīga korelācija augstas pakāpes iekaisuma gadījumā starp EMT antigēniem.

2.4. DNS labotājgēnu proteīnu ekspresija

Kopumā MMR proteīnu ekspresija tika konstatēta 118 (95,2 % (89,8–97,8)) gadījumos, bet 6 (4,8 % (2,2–10,2)) gadījumos tika konstatēts MMR proteīnu zudums. MSH2 ekspresijas vidējā vērtība 1,43 ± 0,06; MSH6 1,79 ± 0,07; PMS2 1,46 ± 0,08; MLH1 1,31 ± 0,07. MMR proteīnu ekspresija

tika pārklasificēta kā zema pret augstu, izmantojot mediānu kā robežvērtību: 1,39 MSH2; 1,9 MSH6; 1,8 PMS2; un 1,43 MLH1.

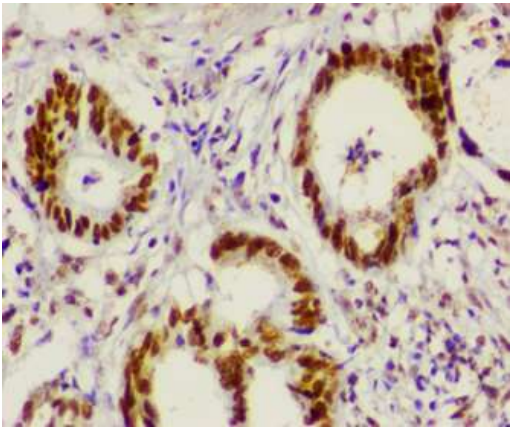
Tika konstatētas statistiski ticamas atšķirības attiecībā uz MSH6 (p = 0,03) un PMS2 (p < 0,01) ekspresiju atkarībā no KRV histoloģiskā tipa (2.14. tabula). Netika konstatētas statistiski nozīmīgas izmaiņas MMR proteīnu ekspresijā saistībā ar pT un pN parametriem (p > 0,05).

2.14. tabula

DNS labotājgēnu proteīnu ekspresija dažādas histoģenēzes KRV

Histolo-ģiskais tips	**MSH2 vērtība [95 % TI]**	**p**	**MSH6 vēr-tība [95 % TI]**	**p**	**PMS2 vērtība [95 % TI]**	**p**	**MLH1 vērtība [95 % TI]**	**p**
Adeno-karcinoma	1,48 [1,35–1,60]	0,06	1,84 [1,69–1,98]	**0,03**	1,54 [1,39–1,70]	**0,002**	1,36 [1,21–1,50]	0,13
Mucinoza karcinoma	1,14 [0,47–1,80]		1,65 [0,97–2,33]		0,72 [0,15–1,30]		0,87 [0,17–1,57]	
Gredzenšūnu karcinoma	0,14 [0,0–1,53]		0,07 [0,0–0,39]		0,02 [0,0–0,21]		–	

MSH2 ekspresija (2.6. attēls) uzrādīja statistiski nozīmīgu atšķirību attiecībā uz audzēja diferenciācijas pakāpi (p = 0,02) pG1: 1,30 (0,48–2,11); pG2: 1,55 (1,41–1,70); pG3: 1,17 (0,91–1,43) un operācijas pusi (p < 0,01): 1,58 (1,44–1,72) kreisās puses KRV pret 1,07 (0,81–1,32) labās puses KRV.



2.6.attēls. **MSH2 ekspresija kolorektālā adenokarcinomā, imūnperoksidāze, 100×**

MSH6 ekspresija būtiski (p = 0,01) atšķiras tikai atkarībā no audzēja lokalizācijas, tā intensīvā ekspresija bija saistīta ar kreisās puses KRV (1,90 (1,75–2,06)), savukārt labās puses KRV uzrādīja nedaudz vājāku MSH6 ekspresiju (1,52 (1,22–1,81)). Netika konstatētas būtiskas atšķirības MSH6 ekspresijā attiecībā uz pG (p > 0,05).

Līdzīgi kā MSH2 ekspresijā, arī PMS2 ekspresija uzrādīja statistiski nozīmīgu tā ekspresijas atšķirību atkarībā no audzēja lokalizācijas puses (p < 0,001) (1,70 (1,55–1,85) kreisās puses KRV pret 0,84 (0,53–1,15) labās puses KRV) un pG (p < 0,001) (pG1: 1,06 (0,0–2,60); pG2: 1,69 (1,52–1,86); pG3: 1,00 (0,70–1,29)).

MLH1 ekspresija tikai statistiski ticami atšķīrās (p < 0,001) atkarībā no audzēja lokalizācijas puses, kur tā vājā ekspresija bija saistīta ar labās puses KRV (0,79 (0,54–1,04) pret 1,53 (1,38–1,68)). Atšķirībā no citiem MMR proteīniem MLH1 neuzrādīja ekspresijas izmaiņas dažādas diferenciācijas audzējos (p = 0,09).

Ja tika konstatētas invāzijas lokālās struktūrās, MMR proteīnu ekspresija statistiski nozīmīgu atšķirību uzrādīja tikai MSH6 ekspresijā intraneirālas invāzijas gadījumā (p = 0,05), kur ievērojami augstāka MSH6 ekspresija tika konstatēta, ja intraneirālas invāzijas nebija. Stratificējot gadījumus augstā un zemā MMR proteīnu līmenī, statistiski nozīmīga atšķirība tika konstatēta tikai starp MLH1 un limfātisku invāziju (p = 0,04, r = 0,19).

Stratificējot gadījumus augstā un zemā MMR proteīnu līmenī, statistiski nozīmīga atšķirība tika konstatēta E-kadherīna (p < 0,01) ekspresijā ar MSH2 (1,91 (1,81–2,01) pret 1,72 (1,61–1,82)) un PMS2 (p = 0,01) (1,95 (1,85–2,05) pret 1,71 (1,60–1,82). N-kadherīna un β-katenīna ekspresija neuzrādīja statistiski nozīmīgu atšķirību attiecībā pret neviena MMR proteīna ekspresiju. CD44 uzrādīja būtisku atšķirību (p = 0,05) tikai attiecībā pret PMS2 ekspresiju (1,17 (1,00–1,34) pret 1,43 (1,24–1,62)).

Netika konstatēta statistiski nozīmīga saistība starp peritumoroza iekaisuma pakāpi saskaņā ar Klintrupa–Mekinena skalu un MMR proteīnu ekspresiju. Arī atsevišķu peritumorāla iekaisuma infiltrāta šūnu sastāva analīze neuzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības attiecībā uz jebkāda veida peritumorālo iekaisuma šūnu blīvumu un CLR blīvumu attiecībā uz MSH2, MSH6 un PMS2 ekspresiju. Tomēr palielināts neitrofilo leikocītu blīvums bija saistīts ar palielinātu MLH1 ekspresiju, sākot no 1,26 (1,11–1,41) zemas pakāpes infiltrācijas gadījumos līdz 1,75 (1,46–2,04) karcinomās, kurās novēroja mērenu vai augstu neitrofilu daudzumu (p = 0,02). MLH1 ekspresija neuzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības attiecībā uz citām iekaisuma šūnām vai CLR

Peritumorālo un intratumorālo CD8+ citotoksisko šūnu daudzums neuzrādīja statistiski nozīmīgu atšķirību grupās ar augstu un zemu MMR proteīna ekspresiju vai pilnīgu MMR zudumu (2.15. tabula).

2.15. tabula

MMR proteīnu ekspresija un CD8+ šūnu skaits

Parametrs	PT CD8+, vidējais skaits [95 % TI]	p	IT CD8+, vidējais skaits [95 % TI]	p
MSH2				
Zems MMR	140,9 [116,9–165,0]	0,31	14,8 [10,3–19,3]	0,25
Augsts MMR	153,6 [132,2–175,1]		19,2 [13,0–25,6]	
MSH6				
Zems MMR	134,1 [111,5–156,6]	0,17	16,7 [11,1–22,3]	0,63
Augsts MMR	159,0 [137,0–181,0]		18,7 [12,7–24,7]	
PMS2				
Zems MMR	145,9 [122,4–169,3]	0,68	17,6 [11,8–23,4]	0,94
Augsts MMR	151,2 [129,6–172,8]		18,0 [12,0–24,0]	
MLH1				
Zems MMR	151,5 [128,1–174,9]	0,95	15,9 [10,4–21,4]	0,19
Augsts MMR	148,5 [127,0–170,0]		19,9 [13,6–26,1]	
MMR zudums				
Esošs	104,8 [11,6–198,0]	0,27	23,0 [0,0–76,5]	0,23
Neesošs	149,5 [133,6–165,3]		17,3 [13,4–21,3]	

3. Diskusija

Kolorektālais vēzis joprojām ir viens no sastopamākajiem ļaundabīgajiem audzējiem, kā arī viens no audzējiem ar augstāko mirstību (Siegel, Miller et al., 2020). Lai gan KRV ir prognostiskie faktori, kurus nevaram mainīt, piemēram, pacientu vecums un audzēja atrašanās vieta, ir faktori (EMT, cilmes šūnas, imūnreakcija), ko varam ietekmēt un mainīt ar piemērotu terapiju. Tiek uzskatīts, ka KRV metastātisku potenciālu veicinoši faktori ir epitēlija mezenhimālā transformācija un vēža cilmes šūnas (Fabregat, Malfettone et al., 2016; Fedyanin, Anna et al., 2017), tomēr to iespējamā mijiedarbība, kā arī mijiedarbība ar citiem audzēju augšanu virzošiem faktoriem, piemēram, iekaisumu, ir neskaidra.

Šī pētījuma mērķis bija norādīt KRV attīstībā iesaistītos molekulāros mehānismus un to saistību ar histopatoloģisko atradi, epitēlija mezenhimālo transformāciju, kā arī iekaisuma reakciju.

3.1. Klīniskā un morfoloģiskā atrade

Dzimums. KRV sastopamība sievietēm un vīriešiem kopumā Rietumvalstīs nav uzrādījusi būtiskas atšķirības (Abotchie, Vernon et al., 2012; Ghebrial, Aktary et al., 2021). Šajā pētījumā tika konstatēts neliels sieviešu īpatsvars, tām veidojot 53,4 % (95 % TI: 49,2–57,5 %) pētījuma grupas. Atšķirību starp pētījumiem var izskaidrot ar pētījuma dizainu, jo šajā pētījumā netika iekļauti pacienti, kuri nav saņēmuši ķirurģisku ārstēšanu plašas audzēja izplatības vai nozīmīgu blakusslimību (piemēram, sirds un asinsvadu slimību) dēļ.

Vecums. Ir zināms, ka kolorektālais vēzis ir sastopams galvenokārt pacientiem pēc 50 gadu vecuma, lai gan ir palielinājusies tendence identificēt KRV pacientiem, kuri ir jaunāki par 50 gadiem, un ir samazinājies gados vecāku pacientu skaits, īpaši Rietumu sabiedrībā (Vuik, Nieuwenburg et al., 2019;

Wong, Wong, Huang et al., 2021). Šajā pētījumā lielākā daļa pacientu bija vecāki par 50 gadiem, veidojot 93 % (90,5–94,8) visas pētījuma grupas, ar vidējo vecumu 71 (IQR, 15) gads. Arī Zviedrijā vidējais vecums vīriešiem ar KRV ir 70 gadi, bet sievietēm 69,0 gadi (Ghazi, Lindforss et al., 2012). Lai gan citi pētījumi liecina, ka lielākā daļa pacientu ir gados vecāki cilvēki, citos pētījumos vidējais KRV diagnozes vecums atšķiras pacientiem vecuma grupā līdz 70 gadiem (Lim, Kuk et al., 2017; Li, Zhu et al., 2019).

Operācijas puse. Pētījumā tika konstatēts, ka kreisās puses KRV ir biežāk sastopams, tā klātbūtni zarnu kreisajā pusē novēroja 70,9 % gadījumu. Šis rezultāts arī parāda līdzības ar citu nesen veiktu pētījumu Eiropā, Itālijā, kur labās puses KRV tika konstatēts 30,1 % gadījumu, kopējo pētījuma grupu veidojot vairāk nekā 29 tūkstošiem pacientu (Mangone, Pinto et al., 2021).

Sinhroni audzēji. Pētījumā tika konstatēts, ka pacientiem ar kreisās puses KRV biežāk ir sinhronais KRV (sKRV), jo to klātbūtne zarnu kreisajā daļā tika novērota 78,3 % pacientu no sKRV pacientiem, un kopumā sKRV tika konstatēts 4,2 % pacientu no visiem pētījumā iekļautajiem KRV gadījumiem. Arī pētījumā, ko veica *Lee* et al., sKRV biežāk tika konstatēts kreisajā pusē, tomēr kopējais sKRV sastopamības biežums pētījumā bija mazāks, aptverot tikai 2,6 % pētījuma grupas pacientu (Lee, Cs et al., 2017).

Sinhrono adenomu klātbūtne šajā pētījumā tika konstatēta 155/553 jeb 28 % gadījumu. Šis rezultāts kopumā ir ļoti līdzīgs citu valstu pētījumiem, kur sinhrono adenomu diapazons pacientiem ar KRV ir no 25 līdz 39 % (Li, Zhu et al., 2019; Sun, Zhao et al., 2020). Lai gan attiecībā uz sinhrono adenomu morfoloģiju šajā pētījumā tika konstatēta neliela atšķirība, jo tubulāras adenomas šajā pētījumā tika atklātas tikai 52,9 % gadījumu.

Audzēja izmērs. Par audzēja izmēra nozīmi KRV ir plašas diskusijas, un nesenā *Jiang* et al. pētījumā tika konstatēts, ka pacientiem ar T1/2 N0 stadijas taisnās zarnas audzēju, kam ir raksturīgs lielāks tilpums, ir statistiski ticami zemāka dzīvildze nekā KRV pacientiem ar neliela izmēra KRV (80,4 % pret 89,6 %, p = 0,042) (Jiang, You et al., 2018). Šajā pētījumā tika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība starp audzēja tilpumu un audzēja atrašanās vietu. Kopumā kreisās puses audzējiem bija raksturīgs mazāks kopējais tilpums nekā labās puses audzējiem (attiecīgi 21,4 (16,3–26,5) cm^3 pret 29,4 (23,0–35,9) cm^3). Arī citos pētījumos kreisās puses audzēju izmērs pārsvarā ir mazāks, piemēram, lielos retrospektīvos pētījumos, kas tika veikti Korejā, vidējais KRV izmērs kreisajā pusē bija 4,3 ± 2,2 cm un 4,4 ± 2,3 cm, salīdzinot ar 5,1 ± 2,7 cm un 5,6 ± 3,1 cm labajā pusē (Lim, Kuk et al., 2017; Kwak, Ju et al., 2021).

Morfoloģija. Pētījumā kolorektāla adenokarcinoma tika konstatēta 88,8 % gadījumu, un, kā liecina arī citi pētījumi, tas ir visizplatītākais KRV morfoloģiskais veids. Citos pētījumos kolorektālas adenokarcinomas skaits ir ap 80–90 % (Betge, Pollheimer et al., 2012). Šajā pētījumā tika konstatēts nedaudz mazāks mucinozu karcinomu skaits, tam veidojot 9,6 % pētījuma grupas. Atšķirībā no šī pētījuma Rumānijā veiktā pētījumā mucinoza karcinoma tika konstatēta 19,3 % gadījumu un 11 % gadījumu pētījumā, kas tika veikts Austrijā (Betge, Pollheimer et al., 2012; Mogoantă, Vasile et al., 2014).

Arī šajā pētījumā, līdzīgi kā citos pētījumos (Li, Liu et al., 2020), tika konstatēts, ka mucinozām karcinomām ir raksturīgs lielāks izmērs. Šajā pētījumā mucinozas karcinomas vidējais tilpums bija 45,3 (20,9–69,6) cm^3, bet nemucinozas karcinomas – 21,0 (17,4–24,6) cm^3.

pT. Šī pētījuma pacientu grupai ir raksturīgs ievērojams lokāli attīstītu audzēju pārsvars: pT3 karcinoma veidoja 49,6 % (45,4–53,7) un pT4 – 35,6 % (31,7–39,7), bet pT2 – tikai 11,9 % (9,5–14,9) visu gadījumu. Citās valstīs pT4 audzēju skaits ir mazāks, kas, iespējams, ir skaidrojams ar novēlotu KRV

diagnozi, jo kopējā KRV skrīninga efektivitāte Latvijā ir mazāka par 12 % (Senore, Basu et al. 2019). Pētījumā, ko veica *Betge* et al., pT4 veidoja tikai 17,0 % pētāmās grupas, pT3 57,2 %, bet kopējais pT1 un pT2 KRV procentuālais daudzums viņu pētījumā bija augstāks (Betge, Pollheimer et al., 2012).

Morfoloģiski lielākā daļa kolorektālas adenokarcinomas gadījumu (50,7 %) tika konstatēti pT3. stadijā un pT4. stadijā (33,8 %), savukārt pT1. un pT2. stadijas KRV tika konstatēts attiecīgi tikai 3,3 un 12,2 % gadījumu. Mucinoza karcinoma tika konstatēta vienlīdz bieži pT3. un pT4. stadijā (43,4 % pret 45,3 %). Savukārt gredzenšūnu karcinoma galvenokārt tika atklāta pT4. stadijā – 6/7 (85,7 %) gadījumos, kas var liecināt par tās agresīvu augšanu.

Iepriekš veiktajos pētījumos ir bijis līdzīgs mucinozas karcinomas gadījumu skaits. *Park* et al. pētījumā mucinoza karcinoma tika atklāta 90,9 % pT3 un pT4 gadījumu, un tika novērots, ka tikai 13,9 % gadījumu šiem pacientiem bija zarnu aizsprostojuma klīniskas pazīmes un 1,5 % gadījumu zarnu perforācija (Park, Huh et al., 2015). Tas kopumā parāda mucinozas karcinomas diagnostikas problēmu, jo tai nav raksturīgu simptomu.

Kolorektāla adenokarcinoma šajā pētījumā kopumā parāda izplatītāku audzēju esību nekā citos pētījumos, jo pT3 tika konstatēts pusei pacientu (50,7 %) un pT4 33,8 % pacientu. Nesenā pētījumā pT4 kolorektāla adenokarcinoma veidoja tikai 8 % pētāmās grupas, savukārt pT3 tika konstatēts 71 % gadījumu (Hosseini, Bananzadeh et al., 2017).

pN. Reģionālo limfmezglu stāvokļa analīze pētījumā parādīja, ka metastāzes limfmezglos (pN+) bija sastopamas 40,5 % pacientu un pN0 tika novērots 49,4 % gadījumu. Atšķirībā citās valstīs veiktajos pētījumos pN0 gadījumu skaits ir nedaudz lielāks, ar svārstībām no līdz 54,0 līdz 55,9 % (Betge, Pollheimer et al., 2012; Ptok, Meyer et al., 2022). Lai gan kopējais pN0 pacientu skaits ir līdzīgs, tomēr kopējais augstas stadijas KRV pacientu skaits šajā pētījumā ir lielāks.

Izplatītāku audzēju klātbūtne šajā pētījuma grupā ir novērota arī attiecībā uz audzēja mezgliņu klātbūtni taukaudos (pN1c). Tie tika identificēti 10,1 % gadījumu. Iepriekš veikti pētījumi ir liecina, ka KRV pacienti ar pN1c ir jāiekļauj augsta riska grupā un jāārstē ar adjuvantu ķīmijterapiju, jo audzēju mezgliņu klātbūtne ir saistīta ar augstāku pTNM stadiju, asinsvadu embolijām un zemāku triju gadu kopējo dzīvildzi, salīdzinot ar pN1a KRV, attiecīgi 81,8 % pret 89,1 % (Bouquot, Creavin et al., 2018).

pG. Šajā pētījumā salīdzinoši ar citiem pētījumiem tika konstatēts izteikts zemas diferenciācijas pakāpes audzēju īpatsvars. pG2 audzēji tika konstatēti 64,0 % gadījumu un pG3 audzēji 25,7 % gadījumu. Atšķirībā iepriekš veiktajā pētījumā, ko veica *Väyrynen* et al., pG3 audzēju skaits veidoja tikai 12,9 % (Vayrynen, Vayrynen et al., 2016). Arī *Lee* et al. veiktajā pētījumā tika konstatēts mazāks pG3 audzēju daudzums, kopējo pētījuma grupu veidojot 80,6 % pG2 un 5,4 % pG3 viena audzēja gadījumā, un 85,7 % (pG2) un 4,6 % (pG3) gadījumos ar sKRV (Lee, Cs et al., 2017).

Invāzijas. Lokālo struktūru invāzija ir viens no galvenajiem KRV prognostiskajiem faktoriem. Šie faktori ir plaši pētīti, un to klātbūtne ir saistīta ar zemiem izdzīvošanas rādītājiem KRV (Hogan, Chang et al., 2015; Kuan, Chang et al., 2019).

Šajā pētījumā limfovaskulāra invāzija tika konstatēta 63,6 %, perineirāla invāzija pusei pacientu (50,1 %) un intraneirāla augšana konstatēta 31,1 % gadījumu. Citos pētījumos šie skaitļi svārstās limfovaskulāras invāzijas gadījumā no 19,7 līdz 27,8 % (Park, Huh et al., 2015; Lee, Cs et al., 2017), perineirālas invāzijas gadījumā – no 5,8 līdz 14,7 % (Park, Huh et al., 2015; Lee, Cs et al., 2017). Pētījumos venozās invāzijas biežums svārstās no 11 % līdz 89,5 % (Kojima, Shimazaki et al., 2013). Kopējais rezultāts un atšķirības no citiem pētījumiem norāda uz plaši izplatīto audzēju skaitu šajā pētījumā, un to var skaidrot ar iespējamo vēlīno KRV diagnozi.

Ir zināms, ka **audzēja nekroze** ietekmē pacienta dzīvildzi un audzēja progresu ne tikai KRV (Vayrynen, Vayrynen et al., 2016), bet arī citos ļaundabīgos audzējos, tostarp nazofaringeālas karcinomas (Liang, Chen et al., 2021) un plaušu karcinomas gadījumā (Oiwa, Aokage et al., 2021). Šajā pētījumā nekroze tika konstatēta 295 KRV gadījumos, pārsvarā tai esot mērenā daudzumā (49,5 % (43,8–55,2)). Nekrozes klātbūtne bija ievērojami augstāka pT4 audzējos, kur tās vidējais apjoms bija 16,6 % audzēja masas (p = 0,04), arī audzējos ar pN+, kā arī zemi diferencētiem audzējiem nekrozes pakāpe bija ievērojami augstāka (p = 0,02 un p = 0,004). Šie rezultāti ir līdzīgi citiem iepriekš veiktajiem pētījumiem. *Väyrynen* et al. veiktajā pētījumā nekrotiskās zonas apjoms arī bija saistīts ar augstāku pT stadiju, un tika konstatētas arī atšķirības nekrozes daudzumā attiecībā uz limfmezglu iesaistīšanos: pN2 vidējais nekrozes apjoms bija 25,0 %, bet pN0 nekrozes apjoms vidēji bija tikai 7,0 % (Vayrynen, Vayrynen et al., 2016).

3.2. Iekaisums kolorektālā vēzī

Šajā pētījumā tika konstatēts neliels KRV gadījumu pārsvars ar zemas pakāpes (52,8 %) peritumorālu iekaisumu. Netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība (p = 0,13) starp pacientiem ar zemas pakāpes (68,1 (66,9–69,3)) un augstas pakāpes (69,6 (68,2–70,9)) peritumorozu iekaisumu. Šis pētījums neuzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības attiecībā uz audzēja apjomu un lokālā iekaisuma pakāpi, norādot, ka vietējai imūnreakcijai varētu būt atšķirīga loma KRV. Iepriekš veiktie pētījumi ir parādījuši neskaidrus rezultātus attiecībā uz iekaisuma lomu KRV, jo galvenokārt ir pētīta sistēmiska iekaisuma ietekme. Pārsvarā citos pētījumos pētīta C reaktīvā proteīna (CRP), fibrinogēna un citu akūtās fāzes proteīnu loma saistībā ar KRV (Rasic, Radovic et al., 2016; Koper-Lenkiewicz, Dymicka-Piekarska et al., 2021), bet vietējā imūnās atbildes reakcija ir ņemta vērā tikai dažos pētījumos.

Šajā pētījumā peritumorāla iekaisuma intensitāte uzrādīja statistiski nozīmīgu saistību ar lokālās invāzijas dziļumu, kā arī pN. Zemas pakāpes iekaisums biežāk tika novērots pT4 gadījumos un ievērojami retāk pT3 karcinomu gadījumā: 63,5 % (56,5–69,9)), salīdzinot ar 48,2 % (42,3–54,1). Iepriekš ir ziņots par saistību starp augstas pakāpes iekaisumu un T1-2 (pretstatā T3-4) (Richards, Roxburgh et al. 2012). Tādējādi ir pierādīts, ka Klintrupa–Mekinena iekaisuma skalai ir atšķirīgas asociācijas salīdzinājumā ar visiem pT. Līdzīgi tikai 40,4 % (34,9–46,1) pacientu ar zemas pakāpes iekaisumu nebija audzēju metastāžu limfmezglos (pN0), salīdzinot ar 59,4 % (53,3–65,2) pacientu ar augstas pakāpes peritumorozu iekaisumu. Šie atklājumi saskan ar *Richards* et al. pētījumu, kur arī tika novērota būtiska atšķirība (p = 0,0039) starp iekaisuma pakāpi un pN0 un pN+ (Richards, Roxburgh et al., 2012). Tā kā pT un pN ir visplašāk lietotie prognostiskie faktori, rezultāti liecina par statistiski nozīmīgu saistību starp augstas intensitātes iekaisumu un mazāku vēža izplatību, kas netieši apstiprina iepriekš aprakstīto saistību.

Šis pētījums parāda statistiski nozīmīgas atšķirības starp lokālo struktūru invāzijām un peritumorālā iekaisuma pakāpi, jo zemas pakāpes peritumoroza iekaisuma gadījumā biežāk tika konstatēta invāzija limfvados (p = 0,003), artērijās (p = 0,012), vēnās (p = 0,017), kā perineirāla (p = 0,001) un intraneirāla (p = 0,01) augšana. Iepriekšējie pētījumi par šo tēmu ir pretrunīgi. Pētījumā, kurā tika pētīts MMR statuss, primāri operējamā KRV saistībā ar lokālu un sistēmisku iekaisumu netika konstatētas statistiski nozīmīgas atšķirības pie augsta intratumorālo limfocītu (TIL) blīvuma un lokālo struktūru invāzijām (Park, Powell et al., 2016). Savukārt citā nesenā pētījumā, TIL klātbūtne tika saistīta ar venozās, limfātiskās un perineirālās invāzijas neesību (Jakubowska, Koda et al., 2021). Atšķirības pētījumu rezultātos norāda uz sarežģītiem mehānismiem saistībā ar imūnreakciju un audzēja progresiju, kas ir jāņem vērā un jāizpēta rūpīgāk.

Iekaisuma šūnu subpopulāciju analīze parādīja, ka eozinofilu (p = 0,008), neitrofilu (p = 0,01) un limfocītu (p = 0,03) blīvums ir saistīts ar karcinomas invāziju limfvados. Perineirālas augšanas esība bija saistīta ar tām pašām iekaisuma šūnu subpopulācijām: limfocītiem (p = 0,003), eozinofiliem (p = 0,01) un neitrofiliem (p = 0,04). Iepriekš tika ziņots, ka liels stromas eozinofilu skaits kolorektālā vēža gadījumā liecina par saistību ar zemāku audzēja stadiju, labāku vispārējo un vēža specifisko piecu gadu dzīvildzi, ko atspoguļo nāves riska attiecība 0,61 (95 % TI: 0,36–1,02; p = attiecīgi 0,02) un 0,48 (95 % TI: 0,24–0,93; p = 0,01) (Prizment, Vierkant et al., 2016). Turklāt lielāks peritumorālo eozinofilu blīvums bija nozīmīgi saistīts ar zemāku T, N un G, asinsvadu invāzijas neesību, kā arī ilgāku dzīvildzi bez slimības progresēšanas un vēža specifisku dzīvildzi (Harbaum, Pollheimer et al., 2015).

Iepriekšējie atklājumi par neitrofilajiem leikocītiem, kas infiltrē kolorektālo karcinomu, ir pretrunīgāki (Mizuno, Kawada et al., 2019), jo augsts intratumorālo neitrofilu skaits korelē ar augstāku pT, pM un stadiju. Zviedru pētnieku grupa no Ūmeo Universitātes atklāja, ka neitrofilu infiltrācija audzēja invāzijas robežā ir labvēlīgs prognostiskais faktors agrīnai kolorektālajai karcinomai (Wikberg, Ling et al., 2017). Šīs pretrunas varētu izskaidrot ar neitrofilu divējādo dabu, kas iekļauj gan audzēju nomācošu N1 apakšpopulāciju, gan audzēju atbalstošus N2 neitrofilus (Mizuno, Kawada et al., 2019).

Ar audzēju saistītie makrofāgi (TAM) ir plaši pētīti, un histopatoloģiskie pētījumi liecina par to daudzuma atšķirību KRV. Pētījumā ar 81 KRV gadījumu tika analizētas TAM attiecības ar EMT marķieriem (E-kadherīnu un vimentīnu) un tika pierādīts, ka TAM virsmas antigēni CD68 un CD163 galvenokārt tiek ekspresēti audzēja invazīvajā frontē un stromā, bez vai ar vāju ekspresiju audzējā. Augsts CD163 līmenis audzēja invāzijas frontē tika saistīts ar mazāku

E-kadherīna un augstāku vimentīna ekspresiju, kas liecina par EMT procesu (Wei, Yang et al., 2019).

Jau vairākus gadu desmitus ir zināms, ka CD8+ T šūnas ietekmē KRV pacientu dzīvildzi (Naito, Saito et al., 1998), un to klātbūtne dažādos ļaundabīgos audzējos ir saistīta ar labāku prognozi (Lalos, Tülek et al., 2021). KRV gadījumā zems CD8+ blīvums ir saistīts ar infiltratīvu audzēja robežu, kas ir viens no sliktas KRV prognozes rādītājiem (Lalos, Tülek et al., 2021). Šajā pētījumā tika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība starp PT CD8+ šūnu skaitu un pT ($p = 0,03$) un pN (0,05). Tika konstatēts, ka KRV ar augstāku pT peritumorālajos audos bija mazāks CD8+ šūnu daudzums, salīdzinot ar KRV ar zemu pT: attiecīgi 121 (95,7–146,9) pT4 un 198,5 (82,6–314,4) pT1. Arī attiecībā pret pN bija statistiski nozīmīga atšķirība CD8+ šūnu daudzumā peritumorozā zonā ($p = 0,05$). Interesanti, ka CD8+ šūnu daudzums uzrādīja statistiski nozīmīgu atšķirību peritumorālajā zonā tikai attiecībā uz perineirālo ($p = 0,02$) un intraneirālo ($p = 0,02$) invāziju. Ļoti līdzīgu rezultātu iepriekš uzrādīja Lea et al., kuru pētījumā perineirālā invāzija bija saistīta ar zemu imūnsistēmas iesaisti ($p = 0,008$), bet limfātiskās invāzijas esība statistiski nozīmīgas saistības ar tās izmaiņām neuzrādīja ($p = 0,10$) (Lea, Watson et al., 2021).

Šobrīd KRV ārstēšana galvenokārt iekļauj ķirurģiju un ķīmijterapiju un / vai staru terapiju (Shinagawa, Tanaka et al., 2017), tomēr, tāpat kā citos ļaundabīgos audzējos, arvien plašāk tiek apspriesta imūnterapijas loma, jo tā ir uzrādījusi labus rezultātus (Lugowska, Teterycz et al., 2018; Bayraktar, Batoo et al., 2019). Tā kā lielākā daļa metastātiskā kolorektālā vēža gadījumu ir mikrosatelīta stabili un imūnterapijas iespējas šādiem audzējiem joprojām ir ierobežotas, šobrīd plaši tiek pētīta KRV mikrovide saistībā ar mikrosatelītu statusu (Kather, Halama et al., 2018). Nesenais pētījums, ko publicēja pētnieki no Francijas, liecina, ka atezolizumaba un tiragolumaba zāļu kombinācija varētu

atjaunot T šūnu funkciju mikrosatelītu stabilā KRV (Thibaudin, Limagne et al., 2022).

3.3. Epiteliāli mezenhimālā transformācija

EMT ir viens no galvenajiem notikumiem KRV patoģenēzē, kas izraisa audzēja invāziju un metastātisku izplatīšanos (Grigore, Jolly et al., 2016). KRV gadījumā EMT īpašības, piemēram, citoskeleta deformēšanās un šūnu kustīgums, kā arī EMT marķieru ekspresija, ir redzamas mazās šūnu grupās, kas ir pazīstamas kā audzēja pumpuri, kā to ir aprakstījis *Grigore* et al. (Grigore, Jolly et al., 2016). Nesen *Sato* et al. analizēja 32 CRC gadījumus, kuros bija novērojama audzēja pumpurošanās. Pētījumā tika parādīts, ka KRV pumpuri ekspresē dažādā intensitātē LGR5 un PD-L1 antigēnus, kas lika secināt, ka pacientiem ar PD-L1 negatīviem audzēja pumpuriem ir jāsaņem atšķirīga ārstēšana, kas ietekmē vēža cilmes šūnu marķieri LGR5 (Sato, Uehara et al., 2021). Tādējādi audzēja veidošanās var būt cieši saistīta ar cilmes šūnām. Šī saikne neaprobežojas tikai ar KRV, bet, iespējams, atspoguļo vispārēju kanceroģenēzes iezīmi. Viens no KRV cilmes šūnu īpašības demonstrējošajiem antigēniem ir CD44, un tā regulēšana KRV audos ir saistīta ar agresīvu audzēja uzvedību (Mohamed, Kaf et al., 2019), kā arī rezistenci pret ķīmijterapiju (Pothuraju, Rachagani et al., 2020).

ajā pētījumā tika demonstrētas CD44 ekspresijas izmaiņas saistībā ar KRV morfoloģiju, tā pārmērīga ekspresija tika novērota mucinozās karcinomās (2,00 (1,61–2,38)), attiecīgi 1,28 (1,15–1,41) adenokarcinomā. Šie rezultāti ir pretrunā citiem pētījumiem, kur ir novērots CD44 ekspresijas zudums mucinozās karcinomās (Ismaiel, Sharaf et al., 2016). Šajā pētījumā CD44 pārmērīga ekspresija tika saistīta ar labās puses audzējiem ($p = 0,002$) un statistiski nozīmīgi augstāka CD44 ekspresija tika konstatēta pN0 audzējos. Šādas izmaiņas ir aprakstītas arī mucinozu olnīcu karcinomu gadījumā, kur ir

konstatēts, ka "robežaudzēji" ekspresē augstāku CD44 līmeni nekā invazīvās karcinomas (Matuura, Miyamoto et al., 2018). KRV to, iespējams, varētu izskaidrot ar CD44 izoformas pārslēgšanās faktu, ko aprakstījuši *Mashita* et al. (Mashita, Yamada et al., 2014) un *Wang* et al. (Wang, Tang et al., 2019).

E-kadherīna ekspresija šajā pētījumā uzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības ar audzēja morfoloģiju (p = 0,001), tā ekspresijas rādītājs bija augstāks kolorektālas adenokarcinomas gadījumā (1,91 (1,83–1,98)), mucinozas karcinomas gadījumā (1,48 (1,23–1,73)). E-kadherīna pazemināta ekspresija statistiski ticami bija saistīta ar zemāku audzēja diferenciācijas pakāpi (p = 0,001), kas arī ir aprakstīts citos iepriekš veiktajos pētījumos (Mogoantă, Vasile et al., 2014; Sayar, Akbas et al., 2015). Zemāka E-kadherīna ekspresija tika konstatēta labās puses audzējos salīdzinājumā ar kreisās puses audzējiem (p = 0,02). Tomēr šajā pētījumā netika konstatētas statistiski nozīmīgas atšķirības E-kadherīna ekspresijā ar pT (p = 0,07), pN (p = 0,16) un invazīvās augšanas izpausmēm (p > 0,05). Citi pētījumi liecina par E-kadherīna ekspresijas zuduma lomu audzēja progresēšanā, un tas tiek uzskatīts par ekstranodālas audzēja izplatības marķieri saistībā ar invāziju asinsvados un augstu pN stadiju audzējos ar pT3 (Kim, Shin et al., 2019).

β-katenīna ekspresija šajā pētījumā parādīja statistiski nozīmīgu atšķirību starp pT un β-katenīna ekspresiju, jo audzējos ar augstu pT tika konstatēta zemāka β-katenīna ekspresija (p = 0,007). Iepriekšējos pētījumos attiecībā uz β-katenīna ekspresijas un pT un pG saistību rezultāti ir pretrunīgi. *Lee* et al. savos pētījumos atklāja, ka β-katenīna ekspresijai nav atšķirību audzējos ar dažādu pT, jo progresējošāki audzēji (pT3 un pT4) uzrādīja β-katenīna ekspresiju tādā pašā līmenī kā pT1 un pT2 (p = 0,07), tomēr zemas diferenciācijas pakāpes KRV šajā pašā pētījumā uzrādīja biežāk pozitīvu β-katenīna ekspresiju (62,5 % gadījumu) nekā augstas diferenciācijas pakāpes KRV, kur β-katenīna ekspresija tika novērota 38,9 % gadījumu (Lee, Kwak

et al., 2016). Atšķirībā no iepriekšējā pētījuma *Gao* et al. konstatēja, ka samazinātai membranozai β-katenīna ekspresijai audzēja centrā ir būtiska saistība ar limfmezglu metastāzēm (p = 0,002) un augstāku TNM stadiju (p = 0,002) (p = 0,002) (Gao, Lu et al., 2014).

Ir zināms, ka **N-kadherīns** ir viena no EMT sastāvdaļām, un šī antigēna pārmērīga ekspresija ir saistīta ar sliktāku prognozi dažādiem audzējiem (Noh, Oh et al., 2017). Šī pētījuma ietvaros N-kadherīna ekspresijas līmeņi statistiski nozīmīgi atšķiras attiecībā uz pT (p = 0,03), augstāku N-kadherīna ekspresiju pT3 KRV, tomēr nedaudz zemāka N-kadherīna ekspresija tika novērota pT4 gadījumā (attiecīgi 1,97 (1,71–2,23) pret 1,45 (1,12–1,78)). Iepriekšējos pētījumos, kuros tika izmantots arī N-kadherīna daļēji kvantitatīvais novērtējums, tika pamanītas vairākas nozīmīgas N-kadherīna ekspresijas asociācijas saistībā ar audzēja diferenciāciju, audzēja lielumu, invāziju un metastāžu klātbūtni (Yan, Yan et al., 2015). Interesanti, ka šajā pētījumā N-kadherīna ekspresija statistiski nozīmīgi atšķiras audzējos ar sKRV, uzrādot mazāku ekspresijas daudzumu šajos audzējos. N-kadherīna ekspresijas pazeminināšanās galvenokārt ir saistīta ar samazinātu migrāciju un invāziju dažādos ļaundabīgos audzējos (Li, He et al., 2010; Zhang, Zhang et al., 2018). Pētījuma rezultāti norāda uz iespējamu pētniecības jomu, jo N-kadherīna ekspresija ir parādījusi neparastu ekspresiju audzējos ar sKRV.

3.4. EMT un iekaisuma mijiedarbība

Vairākos pētījumos ir aprakstītas attiecības starp EMT marķieriem. Ir plaši pētīts, kā pazeminināta E-kadherīna ekspresijas regulācija izraisa N-kadherīna augšupregulāciju (Cao, Wang et al., 2019; Jang, Choi et al., 2021), kā arī, kā atšķiras CD44 un β-katenīna līmenis dažādu stadiju kolorektālo karcinomu gadījumā (Masaki, Goto et al., 2001; Iseki, Shibutani et al., 2017; Qu,

Jiang et al., 2017). Tomēr atšķirīgās attiecības starp EMT marķieriem dažādas pakāpes iekaisumā nav tik plaši pētītas.

Šūnu pētījumi ir parādījuši lokāla iekaisuma lomu iespējamā audzēja progresijā, jo citokīni, piemēram, IL-1β, IL-6 un TNFα, stimulē KRV šūnu adhēziju pie mezotēlija (van Grevenstein, Hofland et al., 2007), potenciāli norādot uz to iespējamo lomu KRV izplatības veicināšanā. Šo teoriju pētīja zinātnieki no Polijas, kuri pētījumos ar pelēm *in vitro*, kā arī *in vivo* parādīja, ka kolorektālo SW480 šūnu proliferāciju un invāziju stimulēja IL-6 un EMT procesu – TGF-β1, kas tika izdalīti no mezoteliālo šūnu līnijām (Mikuła-Pietrasik, Sosińska et al., 2015). Pētījumā tika pētīta arī EMT virzošo transkripcijas faktoru SMAD2/3 un Snail1 ietekme, jo šo transkripcijas faktoru inhibīcija būtiski mazināja KRV šūnu transformāciju mezenhimālā fenotipā ar samazinātu E-kadherīna un palielinātu vimentīna ekspresiju (Mikuła-Pietrasik, Sosińska et al., 2015).

Šajā pētījumā tika konstatēta statistiski nozīmīga korelācija zemas pakāpes iekaisuma gadījumā attiecībā uz β-katenīna un E-kadherīna ekspresiju, statistiskā analīze uzrādīja vāju korelāciju starp šiem marķieriem (r/rs = 0,290; p = 0,03). Statistiski ticama atšķirība tika novērota arī starp β-katenīna un N-kadherīna ekspresiju, tika konstatēta mērena korelācija starp to ekspresiju (r/rs = 0,491; p = 0,00). Citu antigēnu ekspresija statistiski nozīmīgi neatšķīrās dažādas pakāpes iekaisumos. Šie rezultāti varētu norādīt uz iespējamu iekaisuma lomu KRV attīstībā, tomēr lokāls iekaisums CRC nav vienīgais rādītājs, kas veicina CRC attīstību, jo nozīmīga loma ir arī sistēmiskam iekaisumam kanceroģenēzē dažādu audzēju gadījumā, tostarp KRV (Chen, Zhai et al., 2017).

Iekaisuma šūnu apakšpopulāciju analīze pētījumā statistiski nozīmīgi atšķiras neitrofilo leikocītu blīvuma izmaiņu gadījumā, kad tika konstatēta augstāka β-katenīna ekspresija (p = 0,001) KRV gadījumos ar augstāku neitrofilo leikocītu blīvumu. Citi pētījumi ir demonstrējuši, ka viens no

citokīniem, kas ir atbildīgs par neitrofilo leikocītu piesaisti (IL-37), ir atbildīgs par β-katenīna ekspresijas nomākšanu KRV (Yan, Zhao et al., 2017), kas liecina par iespējamu neitrofilo leikocītu lomu audzēja attīstības nomākšanā. Lai gan šis pētījums neuzrādīja atšķirības β-katenīna ekspresijā un limfocītu daudzumā (p = 0, 68), neitrofilo leikocītu klātbūtni var izskaidrot ar reakciju saistībā ar limfocītiem, jo tie veicina neitrofilu aktivāciju dažādos virzienos, kā to apraksta *Oberg* et al. (Oberg, Wesch et al., 2019). β-katenīna ekspresijas pieaugums neitrofilo leikocītu pieauguma gadījumā ir saskaņā ar iepriekšējiem pētījumiem, kur augsts intratumorālo neitrofilu daudzums KRV bija saistīts ar sliktu prognozi (Rao, Chen et al., 2012).

Interesanti, ka iekaisuma šūnu apakšpopulāciju analīze uzrādīja statistiski nozīmīgu rezultātu attiecībā uz E-kadherīna ekspresijas augšupregulāciju (p = 0,007) un N-kadherīna pazeminātu ekspresiju (p = 0,02) eozinofilo leikocītu klātbūtnē. Iepriekš ir ziņots par saistību (p = 0,003) starp palielinātu eozinofilu skaitu asinīs un samazinātu kolorektālā vēža risku ar riska koeficientu 1,0, 0,70 (95 % TI: 0,50–0,98) un 0,58 (95 % TI: 0,40–0,83) absolūtā eozinofilu skaita tercilēs (Prizment, Anderson et al., 2011). Šie rezultāti varētu apstiprināt ideju par eozinofilo leikocītu aizsargājošo lomu, kas tika demonstrēta iepriekš (Prizment, Vierkant et al., 2016).

Iekaisuma saistība ar EMT ir potenciāli sarežģīts mehānisms, jo pārmērīga E-kadherīna ekspresija makrofāgos var norādīt uz iespējamu imūnsupresīvu reakciju dažās makrofāgu apakšgrupās. 2015. gadā Beļģijā veiktais pētījums ar pelēm parādīja, ka alternatīvi aktivētiem makrofāgiem (AAM), kas savā virsmā ekspresē E-kadherīnu, ir imūnreakciju nomācoša loma, jo AAM producēja mazāk iekaisuma citokīnu (van den Bossche, Laoui et al., 2015). Tomēr cits pētījums ar pelēm parādīja, ka E-kadherīna līmenis varētu būt potenciāls iekaisuma smaguma indikators, jo pelēm ar akūtu pankreatītu tika konstatēts paaugstināts E-kadherīna ekspresijas līmenis un

statistiskā analīze parādīja statistiski nozīmīgu saistību ar smagu akūtu pankreatītu (Yuan, Pan et al., 2015).

Pētījumu rezultāti kopumā norāda uz sarežģītiem mehānismiem, kas ir iesaistīti EMT, jo reakcijas, kas sekmē EMT veidošanos potenciāli ir sarežģītas, un arī iekaisumam varētu būt nozīmīga loma šajā procesā.

3.5. DNS labotājgēnu proteīni

DNS labotājgēnu (MSH2, MSH6, PMS2 un MLH1) aberāciju noteikšana ir ļoti svarīga KRV, jo MMR proteīnu zudums ir MSI karcinomu indikators. Personalizētās medicīnas laikmetā precīza diagnoze ir ļoti svarīga, jo MSI audzēji ir rezistenti pret ķīmijterapiju (Aggarwal, Quaglia et al., 2022). Iepriekš tika pierādīts, ka imūnhistoķīmiska MLH1 un MSH2 noteikšana ir pieņemami jutīga un specifiska, lai noteiktu MSI statusu: attiecīgi 92,3 un 100 % (Lindor, Burgart et al., 2002), tāpēc šī pieeja ir izmantota arī citos pētījumos (Lanza, Gafà et al., 2002; Amira, Mouna et al., 2014) un MMR proteīnu imūnhistoķīmiskā noteikšana tiek uzskatīta par piemērotu alternatīvu molekulārajai pārbaudei (Raffone, Travaglino et al., 2020). Arī MMR proteīnu imūnhistoķīmiskā noteikšana ir izrādījusies izmaksu ziņā izdevīgāka un nav tik laikietilpīga kā citas metodes (Pérez-Carbonell, Ruiz-Ponte et al., 2012; Bai, Ma et al., 2019).

Šajā pētījumā tika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība MMR proteīnu (MSH6: $p = 0,03$; PMS2: $p = 0,002$) ekspresijā saistībā ar KRV histoģenēzi. Gredzenšūnu karcinoma uzrādīja zemu MSH6 un PMS2 ekspresiju: 0,07 (0,0–0,39); 0,02 (0,0–0,21) pret 1,84 (1,69–1,98) un 1,54 (1,39–1,70) kolorektālā adenokarcinomā. Iepriekšējos pētījumos arī ir demonstrēts imūnhistoķīmisks MMR proteīnu ekspresijas zudums zemu diferencētās kolorektālās karcinomās (Wang, Jiang et al., 2019).

Lai gan netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība MMR proteīnu ekspresijā dažādas pakāpes iekaisumos, MSH2, MSH6, PMS2 un MLH1

ekspresija uzrādīja statistiski nozīmīgu atšķirību to ekspresijā atkarībā no audzēja atrašanās vietas, kreisajā pusē lokalizētiem audzējiem uzrādot augstāku ekspresiju. MSH2 un PMS2 ekspresija uzrādīja statistiski nozīmīgu atšķirību ar pG, zemāks ekspresijas līmenis tika novērots augstas un zemas diferenciācijas pakāpes audzējos, savukārt vidējas diferenciācijas gadījumā abu MMR proteīnu ekspresija bija augstāka. MMR proteīnu ekspresijā netika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība gadījumos ar invāzijām lokālajās struktūrās, izņemot intraneirālu invāziju un MSH6 ekspresiju, kur invāzijas neesību raksturoja augstāks MSH6 ekspresijas līmenis.

Iepriekš pētījumi arī ir raksturojuši atšķirības MMR proteīnu ekspresijā atkarībā no audzēja atrašanās vietas un pG. *Wang* et al. pētījumā MLH1/MSH2 negativitāte KRV bija raksturīga labās puses audzējiem (27,88 pret 17,86 %, $p = 0,029$) un MMR negativitāte bija saistīta ar zemu diferenciāciju un mucīna veidošanos (Wang, Jiang et al., 2019). Tomēr minētajā pētījumā izmaiņas MLH1/MSH2 ekspresijā nebija saistītas ar vecumu, dzimumu, audzēja stadiju, audzēja lielumu, limfocītu infiltrāciju vai cirkulāru audzēja robežu ($p > 0,05$) (Wang, Jiang et al., 2019). Nesenā pētījumā tika aprakstīts, ka aptuveni 25 % pacientu ar sKRV ir MMR ekspresijas izmaiņas audzējā, kas liecina, ka molekulārie mehānismi, kuri ietekmē sKRV attīstību, atšķiras un, lai izvēlētos piemērotu terapiju, ir jānosaka MMR ekspresijas izmaiņas (Vyas, Firat et al., 2021). Šajā pētījumā atšķirības MMR proteīna ekspresijas līmeņos gadījumos ar sKRV neatšķīrās no gadījumiem bez sKRV ($p > 0,05$). Tomēr, ņemot vērā, ka pētījuma grupā bija tikai atsevišķi sKRV gadījumi, turpmāk varētu veikt tā padziļinātu izpēti.

Šajā pētījumā noteiktu MMR proteīnu līmeņi parādīja saistību ar KRV molekulārajām īpašībām. Augstāks E-kadherīna vidējais rādītājs bija nozīmīgi saistīts ar MSH2 (p = 0,008) un PMS2 (p = 0,014) klātbūtni, savukārt zemāka CD44 ekspresija – ar PMS2 (p = 0,05). Iepriekš tikai daži pētījumi ir analizējuši MMR statusu un molekulārās īpašības KRV. Nesenā pētījumā tika atklāts, ka tikai MMR stabils KRV, kam nebija pierādījumu par diferenciāciju, pilnībā zaudēja E-kadherīna ekspresiju (Perna, Navarro et al., 2021).

Pētījumā netika konstatēta MMR proteīnu ekspresijas atšķirība starp gadījumiem, kuros bija augsta un zema iekaisuma intensitāte, izmantojot divpakāpju Klintrupa–Mekinena iekaisuma skalu. Attiecībā uz iekaisuma šūnu subpopulācijām statistiski nozīmīgas atšķirības MMR proteīnu ekspresijā netika konstatētas, izņemot MLH1 proteīna ekspresiju. Tika novērota augstāka MLH1 ekspresija gadījumos ar lielāku neitrofilo leikocītu blīvumu (p = 0,02). Tas ir pretstatā nesen veiktajam pētījumam, kur pacientiem ar izteiktu neitrofilo leikocītu infiltrāciju biežāk tika konstatēts KRV ar MMR deficītu (p < 0,01), tomēr šis pētījums parādīja, ka neitrofilo leikocītu daudzums neietekmē piecu gadu izdzīvošanas rādītājus, jo KRV pacientiem ar un bez MMR deficīta bija līdzīgi dzīvildzes rādītāji ar neitrofilajiem leikocītiem bagātām karcinomām (Rottmann, Patel et al., 2021).

Šajā pētījumā MSH6 ekspresija arī uzrādīja statistiski nozīmīgu korelāciju attiecībā uz CD8+ T šūnu daudzumu peritumorālajā zonā (r/rs = 0,203; p = 0,031), norādot uz MSH6 iespējamo lomu imūnmehānisma aktivācijā. Tomēr, analizējot zemu un augstu MMR proteīnu ekspresiju, kā arī MMR proteīnu esību / neesību un PT CD8+ šūnu daudzumu, statistiski nozīmīgas atšķirības netika konstatētas. Iepriekš tika aprakstīta korelācija starp CD8+ šūnām un MSH2 ekspresiju plaušu adenokarcinomā, kur augsta MSH2 ekspresija izteikti korelēja ar palielinātu PD-L1 ekspresiju un CD8+ T šūnu infiltrāciju, ko ir iespējams izmantot imūnterapijā, jo MMR proteīnu noteikšana

imūnhistoķīmiski ir daudz vienkāršāka un ātrāka (Jia, Yao et al., 2020). Tomēr ir arī citi faktori, kas varētu ietekmēt CD8+ šūnu daudzumu, jo KRV nenobriedusi desmoplastiska stromas reakcija ir saistīta ar mazāku CD8+ šūnu un makrofāgu daudzumu, kā arī normālu MMR proteīna ekspresiju (Ueno, Shinto et al., 2014).

Kopumā šis pētījums parāda sarežģītu mehānismu mijiedarbību un norāda uz nepieciešamību veikt turpmākus pētījumus, lai izprastu mehānismus, kas savieno MMR proteīnus, iekaisumu un EMT.

Secinājumi

1. Šis pētījums kopumā parāda augstu lokāli progresējoša KRV izplatību Latvijā, kas izpaužas kā pT4 un pN+.
2. Lai gan kopējais sinhrono adenomu sastopamības biežums ir līdzīgs citiem pētījumiem, tomēr villozu adenomu sastopamība ir augstāka. Sinhrons KRV ir izplatītāks jaunu pacientu vidū.
3. Augstas intensitātes iekaisums ievērojami retāk izpaužas ar lokālo struktūru iesaisti, tostarp perineirālu un intraneirālu augšanu un invāziju limfvados, vēnās un artērijās. Tādējādi augstas intensitātes peritumorozs iekaisums ir saistīts ar labvēlīgām kolorektālās karcinomas morfoloģiskajām iezīmēm un nav sekundārs audu bojājumam un nekroze.
4. Zems peritumorozo un intratumorozo limfocītu, neitrofilo leikocītu un eozinofilo leikocītu blīvums ir saistīts ar lokālu invāziju esamību un CLR trūkums ir saistīts ar plašāku audzēja lokālo progresiju.
5. KRV EMT ir saistīta ar audzēja histoģenēzi un audzēja diferenciācijas pakāpi, jo E-kadherīna ekspresijas līmenis ir zemāks zemu diferencētos audzējos un audzējos ar ne-adenokarcinomas morfoloģiju. EMT ir nozīme audzēja progresijā un tā veidošanos var daļēji ietekmēt iekaisums.
6. CD44 ekspresija ir atkarīga no audzēja histoģenēzes, bet tā nav atkarīga no audzēja diferenciācijas. Zemāka CD44 ekspresija KRV varētu būt limfogēnu metastāžu marķieris.
7. β-katenīnu varētu izmantot kā izplatīta KRV indikatoru, jo tā līmenis būtiski paaugstinās audzējos ar augstāku pT. β-katenīna līmenis ir saistīts ar imūno reakciju.
8. N-kadherīna ekspresija būtiski samazinās un E-kadherīna ekspresija būtiski pieaug audzējos ar lielu eozinofilu leikocītu daudzumu, kas liecina par šo iekaisuma šūnu aizsargājošo lomu. Zemāka N-kadherīna ekspresija tika novērota KRV gadījumos ar sKRV.

9. MMR proteīnu ekspresija ir zemāka ne-adenokarcinomās un labās puses audzējos, tomēr MMR proteīnu ekspresija būtiski neatšķiras audzējos ar un bez invāzijas lokālās struktūrās, kā arī audzējos ar augstas un zemas intensitātes iekaisumu. MLH1 ekspresija nozīmīgi atšķiras audzējos ar dažādu skaitu neitrofilo leikocītu, potenciāli parādot molekulāro mehānismu nozīmi pretaudzēju imunitātē.
10. MMR statuss ir saistīts ar EMT, jo audzējos ar zemu MMR proteīnu ekspresiju ievērojami mazinās E-kadherīna daudzums un palielinās CD44 ekspresija.

Praktiskās rekomendācijas

1. Visos KRV gadījumos histopatoloģijas ziņojumos būtu jāiekļauj iekaisuma novērtējums pēc Klintrupa–Mekinena skalas.
2. Visos KRV gadījumos jāveic imūnhistoķīmiskā izmeklēšana, lai novērtētu cilmes šūnu (CD44) klātesamību un MMR proteīnu (MSH2, MSH6, PMS2, MLH1) ekspresiju.

Publikācijas par pētījuma tēmu

Publikācijas:

1. **Briede**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2020. The Association Between Inflammation, Epithelial Mesenchymal Transition and Stemness in Colorectal Carcinoma. *J Inflamm Res*. Jan 8; 13:15–34. doi: 10.2147/JIR.S224441.

2. **Briede**, **I**., Balodis, D., Gardovskis, J., Strumfa, I. 2021. Stemness, Inflammation and Epithelial-Mesenchymal Transition in Colorectal Carcinoma: The Intricate Network. *Int J Mol Sci*. Nov 29; 22(23):12891. doi: 10.3390/ijms222312891.

3. **Driķe**, **I**., Strumfa, I., Kolomencikova, L., Vasko, E., Vanags, A., Gardovskis, J. 2014. Colorectal leiomyosarcoma- a rare tumour in GIST era. *Acta Chirurgica Latviensis*. 14/2: 36–39.

4. Vasko, E., Vanags, A., Strumfa, I., Bogdanova, T., **Drike**, **I**., Gardovskis, J. 2014. Malignant neighbours in liver: co-occurence of metastatic colorectal and hepatocellular carcinomas. *Acta Chirurgica Latviensis*. 14/2: 49–51.

5. **Driķe**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2014. Frequency of morphologic prognostic factors in surgically treated colorectal cancer. *Acta Chirurgica Latviensis*. 14/1: 3–10.

Tēzes starptautiska mēroga kongresos un konferencēs:

1. **Briede**, **I**., Strumfa, I., Konopecka, V., Ratniece, M., Vanags, A., Gardovskis, J. 2021. Inflammation – the microenvironment for tumor progression and stem cell differentiation in colorectal carcinoma. Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”: Abstracts, 24–26 March, 461.

2. Cukure, F., Cipkina, S., **Driķe**, **I**., Strumfa, I., Gardovskis, J. 2019. Tumor volume association with the systemic inflammatory reaction in patients with surgically treated colorectal carcinoma. Abstract Volume, World Congress of Surgery, 11.–15.08.2019. Krakow, Poland.

3. **Drike**, **I**., Cukure, F., Cipkina, S., Strumfa, I., Gardovskis, J. 2019. C- reactive protein and other SIR parameters in relation to lymph node yield in colorectal carcinoma. RSU International research conference 2019 – Knowledge for use in practice. April 1st–3rd, 2019, Riga Latvia.

4. **Drike**, **I**., Cipkina, S., Cukure, F., Strumfa, I., Gardovskis, J. 2019. Interaction between local and systemic inflammatory response in colorectal carcinoma: two faces of Janus. RSU International research conference 2019 – Knowledge for use in practice. April 1st–3rd, 2019, Riga Latvia.

5. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2017. Mismatch repair proteins and epithelial mesenchymal transition in colorectal cancer. 29th Congress of the ESP Amsterdam, Netherlands 02.09.–06.09.2017. Theses book: Virchows Arch. The European Journal of Pathology. Springer, 2017; 471 (1), 179.

6. Rumba, R., Vanags, A., **Drike**, **I**., Cukure, F., Cipkina, S., Gardovskis, J., Strumfa, I. 2017. Systemic inflammatory reaction in surgically treated colorectal cancer. Abstract Volume, World Congress of Surgery, 13.–17.08.2017. Basel, Switzerland.

7. Rumba, R., **Drike**, **I**., Vanags, A., Strumfa, I., Gardovskis, J. 2017. Epithelial mesenchymal transformation and peritumorous inflammation in surgically treated colorectal cancer. Abstract Volume, World Congress of Surgery, 13.–17.08.2017. Basel, Switzerland.

8. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Rumba, R., Vanags, A., Gardovskis, J. 2017. Landscape of CD44expression in colorectal carcinoma by tumour and patient's characteristics. Poster session abstracts. 8th Mildred Scheel cancer conference, 2017, 149.

9. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2016. Intensity of inflammation and lymphoid follicle density in relation to the invasive properties of colorectal cancer. Abstract Book Posters. 8th European Multidisciplinary colorectal cancer congress (EMCCC), 2016, 62, 41.

10. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2016. Calretinin use for serosal invasion detection in case of colorectal cancer. Virchows Arch. *The European Journal of Pathology*. Springer. 465 (1), 313.

11. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2016. Modified Klintrup-Makinen inflammation score in relation to invasive properties of colorectal cancer. International symposium *Targets of immunotherapy of chronic viral infections and cancer*. Riga, Latvia, May 24–26.

12. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2016. p53 protein expression and its correlation with cell proliferation in colorectal cancer. International symposium *Targets of immunotherapy of chronic viral infections and cancer*. Riga, Latvia, May 24–26.

13. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2015. Tumour necrosis in colorectal cancer: an association with the invasive potential. The 8th Baltic Morphology scientific conference. Vilnius, Lithuania, 12.–14.11.2015., Abstract Book, 87.

14. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2015. E-cadherin as a prognostic factor in locally advanced colorectal cancer. The 8th Baltic Morphology scientific conference. Vilnius, Lithuania, 12.–14.11.2015., Abstract Book, 86.

15. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2015. Tumour volume: lack of biological significance in colorectal cancer. Abstract Book of the 8th Congress of the Baltic Association of Surgeons. Tallin, Estonia, 10.–12.09.2015., 67.

16. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2015. Regional lymph node status in synchronous colorectal carcinoma. Abstract Book of the 8th Congress of the Baltic Association of Surgeons. Tallin, Estonia, 10.–12.09.2015., 66.

17. Vasko, E., Vanags, A., Strumfa, I., **Drike**, **I**., Gardovskis, J. 2015. Immunohistochemical factors associated with metastatic spread of surgically treated colorectal cancer. 46th World Congress of Surgery, Bangkok, Thailand, 23.–27.08.2015., Abstract Book, 441.

Tēzes vietēja mēroga kongresos un konferencēs:

1. **Drike**, **I**., Vanags, A., Strumfa, I., Gardovskis, J. 2018. Inflammatory cell spectrum in colorectal carcinoma, its relation to tumour invasion [Iekaisuma šūnu spektrs kolorektālas karcinomas audos saistībā ar audzēja invāziju] Abstracts of the 17th scientific conference, Riga Stradins University (22nd–23rd April, 2018), 176.

2. **Drike**, **I**., Vanags, A., Strumfa, I., Gardovskis, J. 2018. Amount of lymphnodes in colorectal carcinoma in different intensity inflammation [Apzarņa limfmezglu skaits kolorektālās karcinomās ar dažādas intensitātes iekaisumu]. Abstracts of the 17th scientific conference, Riga Stradins University (22nd–23rd April, 2018), 178.

3. Rumba, R., Vanags, A., Cipkina, S., Cukure, F., **Drike**, **I**., Gardovskis, J., Strumfa, I. 2018. Systemic inflammatory reaction and its relation to surgically treated colorectal carcinoma morphology [Sistēmiska iekaisuma reakcijas saistība ar ķirurģiski ārstētas kolorektālas karcinomas lokālo morfoloģisko ainu] Abstracts of the 17th scientific conference, Riga Stradins University (22nd–23rd April, 2018), 174.

4. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Rumba, R., Vanags, A., Gardovskis, J. 2017. Manifestation of epithelial mesenchymal transition in colorectal cancer [Epiteliāli mezenhimālās transformācijas izpausmes kolorektālā vēzī]. Abstracts of the 16th scientific conference, Riga Stradins University (6th–7th April, 2017), 205.

5. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Rumba, R., Vanags, A., Gardovskis, J. 2017. CD44 expression in colorectal cancer [CD44 ekspresija kolorektālā vēzī]. Abstracts of the 16th scientific conference, Riga Stradins University (6th–7th April, 2017), 206.

6. Strumfa, I., **Drike**, **I**., Simtniece, Z., Mezale, D., Fridrihsone, I., Štrumfs, B., Abolins, A., Balodis, D., Vanags, A., Gardovskis, J. 2017. Expression of vimentin in adenocarcinoma cells of different origin: insight of epithelial mesenchymal transition [Vimentīna ekspresija dažādas izcelsmes adenokarcinomu šūnās: ieskats epiteliāli mezenhimālajā transformācijā] Abstracts of the 16th scientific conference, Riga Stradins University (6th–7th April, 2017), 221.

7. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2016. Cell adhesion prognostic role in colorectal cancer. [Šūnu adhēzijas prognostiskā nozīme kolorektālā vēzī] // Abstracts of the 15th scientific conference, Riga Stradins University (17th–18th March, 2016), 188.

8. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2016. p53 protein expression in colorectal cancer [p53 proteīna ekspresija kolorektālā vēzī] // Abstracts of the 15th scientific conference, Riga Stradins University (17th–18th March, 2016), 189.

9. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2016. Inflammation intensity and Crohn- like lymphoid reaction significance in colorectal cancer [Iekaisuma intensitātes un Krona slimībai līdzīgās limfoīdās reakcijas nozīme kolorektālā vēzī] // Abstracts of the 15th scientific conference, Riga Stradins University (17th–18th March, 2016), 190.

10. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Uzars, A., Zevaka, O., Kolomencikova, L., Vanags, A., Gardovskis, J. 2015. Connection of colorectal tumour morphological spectrum to the patients age and tumour localisation [Kolorektālu audzēju morfoloģiskā spektra saistība ar pacienta vecumu un audzēja lokalizāciju] // Abstracts of the 15th scientific conference, Riga Stradins University (26th–27th March, 2015), 278.

11. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Kolomencikova, L., Zevaka, O., Uzars, A., Vanags, A., Gardovskis, J. 2015. Colorectal cancer volume and its connection to the tumour localisation and pT [Kolorektāla vēža tilpums saistībā ar audzēja lokalizāciju un pT] // Abstracts of the 15th scientific conference, Riga Stradins University (26th–27th March, 2015), 279.

12. Strumfa, I., Vasko, E., Vanags, A., **Drike**, **I**., Gardovskis, J. 2015. Molecular factors for metastasis formation in surgically treated colorectal carcinoma [Metastāžu veidošanās molekulārie faktori ķirurģiski ārstētā kolorektālā karcinomā] // Abstracts of the 15th scientific conference, Riga Stradins University (26th–27th March, 2015), 275.

13. Strumfa, I., Vasko, E., Vanags, A., **Drike**, **I**., Gardovskis, J. 2015. Molecular portret of liver surgery: comparement of most frequently resected carcinomas [Aknu ķirurģijas molekulārais portrets: biežāko rezecējamo karcinomu salīdzinājums] // Abstracts of the 15th scientific conference, Riga Stradins University (26th–27th March, 2015), 277.

14. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2014. The morphologic spectrum of surgically treated colorectal cancer [Radikāli operēta kolorektāla vēža morfoloģiskais spektrs] // Abstracts of the 13th scientific conference, Riga Stradins University (10th–11th April, 2014), 295.

15. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2014. Morphologic prognostic factors of surgically treated colorectal cancer [Kolorektāla vēža prognostisko faktoru analīze radikālu operāciju materiālā] // Abstracts of the 13th scientific conference, Riga Stradins University (10th–11th April, 2014), 296.

16. **Drike**, **I**., Strumfa, I., Vanags, A., Gardovskis, J. 2014. Regional lymph node evaluation in surgical materials of colorectal carcinoma [Reģionālo limfmezglu stāvoklis kolorektālas karcinomas gadījumā] // Abstracts of the 13th scientific conference, Riga Stradins University (10th–11th April, 2014), 297.

17. Vilmanis, J., Vanags, A., Strumfa, I., **Drike**, **I**., Simtniece, Z., Vasko, E., Gardovskis, J. 2014. Immunohistochemical algorithm in the differential diagnostics

of hepatocellular and colorectal cancer [Imūnhistoķīmiskais algoritms hepatocelulāra vēža un metastātiska kolorektāla vēža diagnostikai] // Abstracts of the 13th scientific conference, Riga Stradins University (10th–11th April, 2014), 289.

18. Vanags, A., Strumfa, I., Abolins, A., Simtniece, Z., **Drike**, **I**., Gardovskis, J. 2014. Mucinous cystadenoma of the appendix: analysis of morphological progression and clinical picture [Aklās zarnas tārpveida piedēkļa mucinoza cistadenoma: morfoloģiskās progresijas un klīniskās ainas analīze] // Abstracts of the 13th scientific conference, Riga Stradins University (10th–11th April, 2014), 282.

Izmantotā literatūra

1. Abotchie, P. N., Vernon, S. W., Du, X. L. 2012. Gender differences in colorectal cancer incidence in the United States, 1975–2006. *Journal of women's health*. 21(4), 393–400. doi: 10.1089/jwh.2011.2992

2. Aggarwal, N., Quaglia, A., McPhail, M. J. W., Monahan, K. J. 2022. Systematic review and meta-analysis of tumour microsatellite-instability status as a predictor of response to fluorouracil-based adjuvant chemotherapy in colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis*. 37(1), 35–46. doi: 10.1007/s00384-021-04046-x

3. Amira, A. T., Mouna, T., Ahlem, B., Raoudha, A., Majid, B. H., Amel, H., Nadia, K. 2014. Immunohistochemical expression pattern of MMR protein can specifically identify patients with colorectal cancer microsatellite instability. *Tumour Biol*. 35(7), 6283–6291. doi: 10.1007/s13277-014-1831-2

4. Bai, W., Ma, J., Liu, Y., Liang, J., Wu, Y., Yang, X., Xi, Y. 2019. Screening of MSI detection loci and their heterogeneity in East Asian colorectal cancer patients. *Cancer medicine.* 8(5), 2157–2166. doi: 10.1002/cam4.2111

5. Bayraktar, S., Batoo, S., Okuno, S., Glück, S. 2019. Immunotherapy in breast cancer. *Journal of carcinogenesis.* 18, 2–2. doi: 10.4103/jcar.JCar_2_19

6. Betge, J., Pollheimer, M. J., Lindtner, R. A., Kornprat, P., Schlemmer, A., Rehak, P., Langner, C. 2012. Intramural and extramural vascular invasion in colorectal cancer. *Cancer*. 118(3), 628–638. doi: 10.1002/cncr.26310

7. Bouquot, M., Creavin, B., Goasguen, N., Chafai, N., Tiret, E., André, T., Svrcek, M. 2018. Prognostic value and characteristics of N1c colorectal cancer. *Colorectal Disease.* 20(9), O248–O255. doi: https://doi.org/10.1111/codi.14289

8. Cao, Z. Q., Wang, Z., Leng, P. 2019. Aberrant N-cadherin expression in cancer. *Biomed Pharmacotherap*. 118, 109320. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109320

9. Chen, J.-H., Zhai, E.-T., Yuan, Y.-J., Wu, K.-M., Xu, J.-B., Peng, J.-J., Cai, S.-R. 2017. Systemic immune-inflammation index for predicting prognosis of colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*. 23(34), 6261–6272. doi: 10.3748/wjg.v23.i34.6261

10. De Smedt, L., Lemahieu, J., Palmans, S., Govaere, O., Tousseyn, T., van Cutsem, E., Sagaert, X. 2015. Microsatellite instable vs stable colon carcinomas: analysis of tumour heterogeneity, inflammation and angiogenesis. *Br J Cancer*. 113(3), 500–509. doi: 10.1038/bjc.2015.213

11. Fabregat, I., Malfettone, A., Soukupova, J. 2016. New Insights into the Crossroads between EMT and Stemness in the Context of Cancer. *J Clin Med.* 5(3), 37. doi: 10.3390/jcm5030037

12. Fedyanin, M., Popova, A., Polyanskaya, E., Tjulandin, S. 2017. Role of Stem Cells in Colorectal Cancer Progression and Prognostic and Predictive Characteristics of Stem Cell Markers in Colorectal Cancer. *Curr Stem Cell Res Ther.* 12(1), 19–30. doi: 10.2174/1574888x11666160905092938

13. Galdiero, M. R., Garlanda, C., Jaillon, S., Marone, G., Mantovani, A. 2013. Tumor associated macrophages and neutrophils in tumor progression. *J Cell Physiol.* 228(7), 1404–1412. doi: 10.1002/jcp.24260

14. Gao, Z.-H., Lu, C., Wang, M.-X., Han, Y., Guo, L.-J. 2014. Differential β-catenin expression levels are associated with morphological features and prognosis of colorectal cancer. *Oncol Lett.* 8(5), 2069–2076. doi: 10.3892/ol.2014.2433

15. Ghazi, S., Lindforss, U., Lindberg, G., Berg, E., Lindblom, A., Papadogiannakis, N., Low-Risk Colorectal Cancer Study, G. 2012. Analysis of colorectal cancer morphology in relation to sex, age, location, and family history. *J Gastroenterol.* 47(6), 619–634. doi: 10.1007/s00535-011-0520-9

16. Ghebrial, M., Aktary, M. L., Wang, Q., Spinelli, J. J., Shack, L., Robson, P. J., Kopciuk, K. A. 2021. Predictors of CRC Stage at Diagnosis among Male and Female Adults Participating in a Prospective Cohort Study: Findings from Alberta's Tomorrow Project. *Current oncology (Toronto, Ont.).* 28(6), 4938–4952. doi: 10.3390/curroncol28060414

17. Grigore, A. D., Jolly, M. K., Jia, D., Farach-Carson, M. C., Levine, H. 2016. Tumor Budding: The Name is EMT. Partial EMT. *J Clin Med.* 5(5), 51. doi: 10.3390/jcm5050051

18. Hanahan, D., Coussens, L. M. 2012. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell.* 21(3), 309–322. doi: 10.1016/j.ccr.2012.02.022

19. Harbaum, L., Pollheimer, M. J., Kornprat, P., Lindtner, R. A., Bokemeyer, C., Langner, C. 2015. Peritumoral eosinophils predict recurrence in colorectal cancer. *Mod Pathol.* 28(3), 403–413. doi: 10.1038/modpathol.2014.104

20. Hogan, J., Chang, K. H., Duff, G., Samaha, G., Kelly, N., Burton, M., Coffey, J. C. 2015. Lymphovascular Invasion: A Comprehensive Appraisal in Colon and Rectal Adenocarcinoma. *Diseases of the Colon & Rectum*, 58(6).

21. Hosseini, S., Bananzadeh, A. M., Salek, R., Zare-Bandamiri, M., Kermani, A. T., Mohammadianpanah, M. 2017. Prognostic Significance of Mucinous Histologic Subtype on Oncologic Outcomes in Patients With Colorectal Cancer. *Ann Coloproctol.* 33(2), 57–63. doi: 10.3393/ac.2017.33.2.57

22. Iseki, Y., Shibutani, M., Maeda, K., Nagahara, H., Ikeya, T., Hirakawa, K. 2017. Significance of E-cadherin and CD44 expression in patients with unresectable metastatic colorectal cancer. *Oncol Lett.* 14(1), 1025–1034. doi: 10.3892/ol.2017.6269

23. Ismaiel, N. E. H. S., Sharaf, W. M., Helmy, D. O., Zaki, M. M., Badawi, M. A., Soliman, A. S. A. 2016. Detection of Cancer Stem Cells in Colorectal Cancer: Histopathological and Immunohistochemical Study. *Open access Macedonian journal of medical sciences.* 4(4), 543–547. doi: 10.3889/oamjms.2016.126

24. Jakubowska, K., Koda, M., Grudzińska, M., Lomperta, K., Famulski, W. 2021. Tumor-infiltrating lymphocytes in tissue material combined with systemic lymphocyte inflammation in patients with colorectal cancer. *Mol Clin Oncol.* 14(5), 97–97. doi: 10.3892/mco.2021.2259

25. Jang, N. R., Choi, J., & Gu, M. J. 2021. Aberrant Expression of E-cadherin, N-cadherin, and P-cadherin in Clear Cell Renal Cell Carcinoma: Association with Adverse Clinicopathologic Factors and Poor Prognosis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 29(3), 223–230. doi: 10.1097/PAI.0000000000000861

26. Jia, M., Yao, L., Yang, Q., Chi, T. 2020. Association of MSH2 Expression With Tumor Mutational Burden and the Immune Microenvironment in Lung Adenocarcinoma. *Front Oncol.* 10, 168–168. doi: 10.3389/fonc.2020.00168

27. Jiang, Y., You, K., Qiu, X., Bi, Z., Mo, H., Li, L., Liu, Y. 2018. Tumor volume predicts local recurrence in early rectal cancer treated with radical resection: A retrospective observational study of 270 patients. *International Journal of Surgery.* 49, 68–73. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2017.11.052

28. Jo, W.-S., Carethers, J. M. 2006. Chemotherapeutic implications in microsatellite unstable colorectal cancer. *Cancer biomarkers : section A of Disease markers.* 2(1–2), 51–60. doi: 10.3233/cbm-2006-21-206

29. Kather, J. N., Halama, N., Jaeger, D. 2018. Genomics and emerging biomarkers for immunotherapy of colorectal cancer. *Semin Cancer Biol.* 52, 189–197. doi: 10.1016/j.semcancer.2018.02.010

30. Keerthivasan, S., Aghajani, K., Dose, M., Molinero, L., Khan, M. W., Venkateswaran, V., Gounari, F. 2014. β-Catenin promotes colitis and colon cancer through imprinting of proinflammatory properties in T cells. *Science translational medicine.* 6(225), 225ra228–225ra228. doi: 10.1126/scitranslmed.3007607

31. Kim, H., Shin, S., Kim, Y., Bang, S., Park, S., Jee, S., Paik, S. 2019. The clinicopathologic significance of extranodal tumor extension in locally advanced (pT3) colorectal adenocarcinoma and its association with the loss of E-cadherin expression. *International journal of clinical and experimental pathology.* 12(9), 3417–3425.

32. Klintrup, K., Mäkinen, J. M., Kauppila, S., Väre, P. O., Melkko, J., Tuominen, H., Mäkinen, M. J. 2005. Inflammation and prognosis in colorectal cancer. *European Journal of Cancer.* 41(17), 2645–2654. doi: 10.1016/j.ejca.2005.07.017

33. Kojima, M., Shimazaki, H., Iwaya, K., Kage, M., Akiba, J., Ohkura, Y., Ochiai, A. 2013. Pathological diagnostic criterion of blood and lymphatic vessel invasion in colorectal cancer: a framework for developing an objective pathological diagnostic system using the Delphi method, from the Pathology Working Group of the Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum. *J Clin Pathol.* 66(7), 551–558. doi: 10.1136/jclinpath-2012-201076

34. Koper-Lenkiewicz, O. M., Dymicka-Piekarska, V., Milewska, A. J., Zińczuk, J., Kamińska, J. 2021. The Relationship between Inflammation Markers (CRP, IL-6, sCD40L) and Colorectal Cancer Stage, Grade, Size and Location. *Diagnostics (Basel, Switzerland).* 11(8), 1382. doi: 10.3390/diagnostics11081382

35. Kuan, T.-C., Chang, S.-C., Lin, J.-K., Lin, T.-C., Yang, S.-H., Jiang, J.-K., Huang, S.-C. 2019. Prognosticators of Long-Term Outcomes of TNM Stage II Colorectal Cancer: Molecular Patterns or Clinicopathological Features. *World Journal of Surgery.* 43(12), 3207–3215. doi: 10.1007/s00268-019-05158-w

36. Kwak, H. D., Ju, J. K., Lee, S. Y., Kim, C. H., Kim, Y. J., Kim, H. R. 2021. Comparison of Right-side and Left-side Colon Cancers Following Laparoscopic Radical Lymphadenectomy. *Journal of Investigative Surgery.* 34(2), 142–147. doi: 10.1080/08941939.2019.1608334

37. Lalos, A., Tülek, A., Tosti, N., Mechera, R., Wilhelm, A., Soysal, S., Droeser, R. A. 2021. Prognostic significance of CD8+ T-cells density in stage III colorectal cancer depends on SDF-1 expression. *Scientific reports.* 11(1), 775. doi: 10.1038/s41598-020-80382-2

38. Lanza, G., Gafà, R., Maestri, I., Santini, A., Matteuzzi, M., Cavazzini, L. 2002. Immunohistochemical Pattern of MLH1/MSH2 Expression Is Related to Clinical and Pathological Features in Colorectal Adenocarcinomas with Microsatellite Instability. *Modern Pathology.* 15(7), 741–749. doi: 10.1097/01.MP.0000018979.68686.B2

39. Lea, D., Watson, M., Skaland, I., Hagland, H. R., Lillesand, M., Gudlaugsson, E., Søreide, K. 2021. A template to quantify the location and density of CD3 + and CD8 + tumor-infiltrating lymphocytes in colon cancer by digital pathology on whole slides for an objective, standardized immune score assessment. *Cancer immunology, immunotherapy : CII.* 70(7), 2049–2057. doi: 10.1007/s00262-020-02834-y

40. Lee, B. C., Cs, Y., J, K., Jl, L., Cw, K., Ys, Y., Kim, J. C. 2017. Clinicopathological features and surgical options for synchronous colorectal cancer. *Medicine (Baltimore).* 96(9), e6224. doi: 10.1097/MD.0000000000006224

41. Lee, K. S., Kwak, Y., Nam, K. H., Kim, D.-W., Kang, S.-B., Choe, G., Lee, H. S. 2016. Favorable prognosis in colorectal cancer patients with co-expression of c-MYC and ß-catenin. *BMC Cancer.* 16(1), 730–730. doi: 10.1186/s12885-016-2770-7

42. Li, K., He, W., Lin, N., Wang, X., Fan, Q.-X. 2010. Downregulation of N-cadherin Expression Inhibits Invasiveness, Arrests Cell Cycle and Induces Cell Apoptosis in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Investigation.* 28(5), 479–486. doi: 10.3109/07357900903476745

43. Li, S., Zhu, K., Yu, W., Wang, Y., Wang, T., Guo, S., Guo, J. 2019. Synchronous Neoplastic Lesions In Referred Patients With Colorectal Cancer: A Retrospective Cohort Study. *Cancer Management and Research*. 11, 9951–9959. doi: 10.2147/CMAR.S229376

44. Li, Z.-P., Liu, X.-Y., Kao, X.-M., Chen, Y.-T., Han, S.-Q., Huang, M.-X., Chu, X.-Y. 2020. Clinicopathological characteristics and prognosis of colorectal mucinous adenocarcinoma and nonmucinous adenocarcinoma: a surveillance, epidemiology, and end results (SEER) population-based study. *Annals of translational medicine*. 8(5), 205–205. doi: 10.21037/atm.2020.01.52

45. Liang, S.-B., Chen, L.-S., Yang, X.-L., Chen, D.-M., Wang, D.-H., Cui, C.-Y., Xu, X.-Y. 2021. Influence of tumor necrosis on treatment sensitivity and long-term survival in nasopharyngeal carcinoma. *Radiotherapy and Oncology.* 155, 219–225. doi: 10.1016/j.radonc.2020.11.011

46. Lim, D. R., Kuk, J. K., Kim, T., Shin, E. J. 2017. Comparison of oncological outcomes of right-sided colon cancer versus left-sided colon cancer after curative resection: Which side is better outcome? *Medicine.* 96(42), e8241–e8241. doi: 10.1097/MD.0000000000008241

47. Lindor, N. M., Burgart, L. J., Leontovich, O., Goldberg, R. M., Cunningham, J. M., Sargent, D. J., Thibodeau, S. N. 2002. Immunohistochemistry Versus Microsatellite Instability Testing in Phenotyping Colorectal Tumors. *Journal of Clinical Oncology.* 20(4), 1043–1048. doi: 10.1200/JCO.2002.20.4.1043

48. Lugowska, I., Teterycz, P., Rutkowski, P. 2018. Immunotherapy of melanoma. *Contemporary oncology (Poznan, Poland)*. 22(1A), 61–67. doi: 10.5114/wo.2018.73889

49. Mangone, L., Pinto, C., Mancuso, P., Ottone, M., Bisceglia, I., Chiaranda, G., Rossi, P. G. 2021. Colon cancer survival differs from right side to left side and lymph node harvest number matter. *BMC Public Health.* 21(1), 906–906. doi: 10.1186/s12889-021-10746-4

50. Masaki, T., Goto, A., Sugiyama, M., Matsuoka, H., Abe, N., Sakamoto, A., Atomi, Y. 2001. Possible contribution of CD44 variant 6 and nuclear β-catenin expression to the formation of budding tumor cells in patients with T1 colorectal carcinoma. *Cancer*. 92(10), 2539–2546. doi: https://doi.org/10.1002/1097-0142(20011115)92:10<2539::AID-CNCR1605>3.0.CO;2-I

51. Mashita, N., Yamada, S., Nakayama, G., Tanaka, C., Iwata, N., Kanda, M., Kodera, Y. 2014. Epithelial to mesenchymal transition might be induced via CD44 isoform switching in colorectal cancer. *J Surg Oncol*. 110(6), 745–751. doi: 10.1002/jso.23705

52. Matuura, H., Miyamoto, M., Takano, M., Soyama, H., Aoyama, T., Yoshikawa, T., Furuya, K. 2018. Low Expression of CD44 Is an Independent Factor of Poor Prognosis in Ovarian Mucinous Carcinoma. *Anticancer Research.* 38(2), 717.

53. McCarthy, A. J., Capo-Chichi, J.-M., Spence, T., Grenier, S., Stockley, T., Kamel-Reid, S., Chetty, R. 2019. Heterogenous loss of mismatch repair (MMR) protein expression: a challenge for immunohistochemical interpretation and microsatellite instability (MSI) evaluation. *The journal of pathology. Clinical research.* 5(2), 115–129. doi: 10.1002/cjp2.120

54. Mikuła-Pietrasik, J., Sosińska, P., Maksin, K., Kucińska, M.G., Piotrowska, H., Murias, M., K.siazek, K. (2015). Colorectal cancer-promoting activity of the senescent peritoneal mesothelium. *Oncotarget.* 6(30), 29178–29195. doi: 10.18632/oncotarget.4932

55. Mizuno, R., Kawada, K., Itatani, Y., Ogawa, R., Kiyasu, Y., Sakai, Y. 2019. The Role of Tumor-Associated Neutrophils in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences.* 20(3), 529. doi: 10.3390/ijms20030529

56. Mogoantă, S. S., Vasile, I., Totolici, B., Neamțu, C., Streba, L., Busuioc, C., Mateescu, G. O. 2014. Colorectal cancer - clinical and morphological aspects. *Rom J morphol Embryol.* 55(1), 103–110.

57. Mohamed, S., Kaf, R. M., Ahmed, M. M., Elwan, A., Ashour, H. R., Ibrahim, A. 2019. The Prognostic Value of Cancer Stem Cell Markers (Notch1, ALDH1, and CD44) in Primary Colorectal Carcinoma. *J Gastrointest Cancer.* 50(4), 824–837. doi: 10.1007/s12029-018-0156-6

58. Molinari, C., Marisi, G., Passardi, A., Matteucci, L., de Maio, G., Ulivi, P. 2018. Heterogeneity in Colorectal Cancer: A Challenge for Personalized Medicine? *International Journal of Molecular Sciences.* 19(12), 3733. doi: 10.3390/ ijms19123733

59. Mukohyama, J., Shimono, Y. A.-O., Minami, H., Kakeji, Y., Suzuki, A. 2017. Roles of microRNAs and RNA-Binding Proteins in the Regulation of Colorectal Cancer Stem Cells. LID – E143 [pii] LID – 10.3390/cancers9100143 [doi]. *Cancers (Basel).* 9(10), 2072–6694. doi: 10.3390/cancers9100143

60. Naito, Y., Saito, K., Shiiba, K., Ohuchi, A., Saigenji, K., Nagura, H., Ohtani, H. 1998. CD8+ T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer. *Cancer Res.* 58(16), 3491–3494.

61. Noh, M.-G., Oh, S.-J., Ahn, E.-J., Kim, Y.-J., Jung, T.-Y., Jung, S., Moon, K.-S. 2017. Prognostic significance of E-cadherin and N-cadherin expression in Gliomas. *BMC Cancer.* 17(1), 583–583. doi: 10.1186/s12885-017-3591-z

62. Oberg, H.-H., Wesch, D., Kalyan, S., Kabelitz, D. 2019. Regulatory Interactions Between Neutrophils, Tumor Cells and T Cells. *Frontiers in immunology.* 10, 1690–1690. doi: 10.3389/fimmu.2019.01690

63. Oiwa, H., Aokage, K., Suzuki, A., Sato, K., Kuroe, T., Mimaki, S., Ishii, G. 2021. Clinicopathological, gene expression and genetic features of stage I lung adenocarcinoma with necrosis. *Lung Cancer*. 159, 74–83. doi: 10.1016/ j.lungcan.2021.07.001

64. Park, J. H., Powell, A. G., Roxburgh, C. S. D., Horgan, P. G., McMillan, D. C., Edwards, J. 2016. Mismatch repair status in patients with primary operable colorectal cancer: associations with the local and systemic tumour environment. *Br J Cancer*. 114(5), 562–570. doi: 10.1038/bjc.2016.17

65. Park, J. S., Huh, J. W., Park, Y. A., Cho, Y. B., Yun, S. H., Kim, H. C., Chun, H.-K. 2015. Prognostic comparison between mucinous and nonmucinous adenocarcinoma in colorectal cancer. *Medicine*. 94(15), e658–e658. doi: 10.1097/ MD.0000000000000658

66. Pérez-Carbonell, L., Ruiz-Ponte, C., Guarinos, C., Alenda, C., Payá, A., Brea, A., Jover, R. 2012. Comparison between universal molecular screening for Lynch syndrome and revised Bethesda guidelines in a large population-based cohort of patients with colorectal cancer. *Gut*. 61(6), 865. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300041

67. Perna, C., Navarro, A., Ruz-Caracuel, I., Caniego-Casas, T., Cristóbal, E., Leskelä, S., Palacios, J. 2021. Molecular Heterogeneity of High Grade Colorectal Adenocarcinoma. *Cancers (Basel)*. 13(2), 233. doi: 10.3390/cancers13020233

68. Pothuraju, R., Rachagani, S., Krishn, S. R., Chaudhary, S., Nimmakayala, R. K., Siddiqui, J. A., Batra, S. K. 2020. Molecular implications of MUC5AC-CD44 axis in colorectal cancer progression and chemoresistance. *Molecular Cancer*. 19(1), 37–37. doi: 10.1186/s12943-020-01156-y

69. Prince, M. E., Sivanandan, R., Kaczorowski, A., Wolf, G. T., Kaplan, M. J., Dalerba, P., Ailles, L. E. 2007. Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 104(3), 973–978. doi: 10.1073/pnas.0610117104

70. Prizment, A., Vierkant, R., Smyrk, T., Tillmans, L., Lee, J., Sriramarao, P., Limburg, P. 2016. Tumor eosinophil infiltration and improved survival of colorectal cancer patients: Iowa women's health study. *Mod Pathol*. 29(5), 516–527. doi: 10.1038/modpathol.2016.42

71. Prizment, A. E., Anderson, K., Visvanathan, K., Folsom, A. R. 2011. Inverse association of eosinophil count with colorectal cancer incidence: atherosclerosis risk in communities study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 20(9), 1861–1864. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0360

72. Prizment, A. E., Vierkant, R. A., Smyrk, T. C., Tillmans, L. S., Lee, J. J., Sriramarao, P., Limburg, P. J. 2016. Tumor eosinophil infiltration and improved survival of colorectal cancer patients: Iowa Women's Health Study. *Mod Pathol*. 29(5), 516–527. doi: 10.1038/modpathol.2016.42

73. Ptok, H., Meyer, F., Croner, R. S., Gastinger, I., Garlipp, B. 2022. T stage-dependent lymph node and distant metastasis and the accuracy of lymph node assessment in rectal cancer. *European Surgery*. 54(2), 86–97. doi: 10.1007/s10353-021-00714-y

74. Qu, J., Jiang, Y., Liu, H., Deng, H., Yu, J., Qi, X., Li, G. 2017. Prognostic Value of E-cadherin-, CD44-, and MSH2-associated Nomograms in Patients with Stage II and III Colorectal Cancer. *Transl Oncol.* 10(2), 121–131. doi: 10.1016/j.tranon.2016.12.005

75. Raffone, A., Travaglino, A., Cerbone, M., Gencarelli, A., Mollo, A., Insabato, L., Zullo, F. 2020. Diagnostic Accuracy of Immunohistochemistry for Mismatch Repair Proteins as Surrogate of Microsatellite Instability Molecular Testing in Endometrial Cancer. *Pathol Oncol Res*. 26(3), 1417–1427. doi: 10.1007/s12253-020-00811-5

76. Rao, H., Chen, J., Li, M., Xiao, Y., Fu, J., Zeng, Y., Xie, D. 2012. Increased intratumoral neutrophil in colorectal carcinomas correlates closely with malignant phenotype and predicts patients' adverse prognosis. *PLoS ONE*, 7(1). doi: 10.1371/journal.pone.0030806

77. Rasic, I., Radovic, S., Aksamija, G. 2016. Relationship Between Chronic Inflammation and the Stage and Histopathological Size of Colorectal Carcinoma. *Medical archives (Sarajevo, Bosnia and Herzegovina)*. 70(2), 104–107. doi: 10.5455/medarh.2016.70.104-107

78. Richards, C. H., Roxburgh, C. S. D., Anderson, J. H., McKee, R. F., Foulis, A. K., Horgan, P. G., McMillan, D. C. 2012. Prognostic value of tumour necrosis and host inflammatory responses in colorectal cancer. *British Journal of Surgery*. 99(2), 287–294. doi: 10.1002/bjs.7755

79. Rottmann, B. G., Patel, N., Ahmed, M., Deng, Y., Ciarleglio, M., Vyas, M., Zhang, X. 2021. Clinicopathological significance of neutrophil-rich colorectal carcinoma. *J Clin Pathol*, jclinpath-2021-207702. doi: 10.1136/jclinpath-2021-207702

80. Sato, K., Uehara, T., Nakajima, T., Iwaya, M., Miyagawa, Y., Watanabe, T., Ota, H. 2021. Inverse correlation between PD-L1 expression and LGR5 expression in tumor budding of stage II/III colorectal cancer. *Annals of Diagnostic Pathology*. 52, 151739. doi: https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2021.151739

81. Sayar, I., Akbas, E. M., Isik, A., Gokce, A., Peker, K., Demirtas, L., Gürbüzel, M. 2015. Relationship among mismatch repair deficiency, CDX2 loss, p53 and E-cadherin in colon carcinoma and suitability of using a double panel of mismatch repair proteins by immunohistochemistry. *Polish Journal of Pathology*. 3, 246–253. doi: 10.5114/pjp.2015.54958

82. Senore, C., Basu, P., Anttila, A., Ponti, A., Tomatis, M., Vale, D. B., Segnan, N. 2019. Performance of colorectal cancer screening in the European Union Member States: data from the second European screening report. *Gut.* 68(7), 1232. doi: 10.1136/gutjnl-2018-317293

83. Shinagawa, T., Tanaka, T., Nozawa, H., Emoto, S., Murono, K., Kaneko, M., Watanabe, T. 2017. Comparison of the guidelines for colorectal cancer in Japan, the USA and Europe. *Ann Gastroenterol Surg*. 2(1), 6–12. doi: 10.1002/ags3.12047

84. Siegel, R., Miller, K., Jemal, A. 2020. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin.* 70(1), 7–30. doi: 10.3322/caac.21590

85. Sun, X., Zhao, D., Long, S., Chen, S., Cai, Q., Yao, S. 2020. Clinicopathological and molecular features of colorectal cancer with synchronous adenoma. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 55(9), 1063–1071. doi: 10.1080/00365521.2020.1795922

86. Thibaudin, M., Limagne, E., Hampe, L., Ballot, E., Truntzer, C., Ghiringhelli, F. 2022. Targeting PD-L1 and TIGIT could restore intratumoral CD8 T cell function in human colorectal cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. doi: 10.1007/s00262-022-03182-9

87. Tirumani, S. H., Shinagare, A. B., O'Neill, A. C., Nishino, M., Rosenthal, M. H., Ramaiya, N. H. 2016. Accuracy and feasibility of estimated tumour volumetry in primary gastric gastrointestinal stromal tumours: validation using semiautomated technique in 127 patients. *European radiology*. 26(1), 286–295. doi: 10.1007/s00330-015-3829-6

88. Ueno, H., Shinto, E., Shimazaki, H., Kajiwara, Y., Sueyama, T., Yamamoto, J., Hase, K. 2014. Histologic Categorization of Desmoplastic Reaction: Its Relevance to the Colorectal Cancer Microenvironment and Prognosis. *Ann Surg Oncol*. doi: 10.1245/s10434-014-4149-9

89. Van den Bossche, J., Laoui, D., Naessens, T., Smits, H. H., Hokke, C. H., Stijlemans, B., Van Ginderachter, J. A. 2015. E-cadherin expression in macrophages dampens their inflammatory responsiveness in vitro, but does not modulate M2-regulated pathologies in vivo. *Scientific reports*. 5, 12599–12599. doi: 10.1038/srep12599

90. van Grevenstein, W. M. U., Hofland, L. J., van Rossen, M. E. E., van Koetsveld, P. M., Jeekel, J., van Eijck, C. H. J. 2007. Inflammatory Cytokines Stimulate the Adhesion of Colon Carcinoma Cells to Mesothelial Monolayers. *Digestive Diseases and Sciences.* 52(10), 2775–2783. doi: 10.1007/s10620-007-9778-4

91. Väyrynen, J. P., Tuomisto, A., Klintrup, K., Mäkelä, J., Karttunen, T. J., Mäkinen, M. J. 2013. Detailed analysis of inflammatory cell infiltration in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 109(7), 1839–1847. doi: 10.1038/bjc.2013.508

92. Vayrynen, S. A., Vayrynen, J. P., Klintrup, K., Makela, J., Karttunen, T. J., Tuomisto, A., Makinen, M. J. 2016. Clinical impact and network of determinants of tumour necrosis in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 114(12), 1334–1342. doi: 10.1038/bjc.2016.128

93. Vuik, F. E. R., Nieuwenburg, S. A. V., Bardou, M., Lansdorp-Vogelaar, I., Dinis-Ribeiro, M., Bento, M. J., Spaander, M. C. W. 2019. Increasing incidence of colorectal cancer in young adults in Europe over the last 25 years. *Gut*. 68(10), 1820. doi: 10.1136/gutjnl-2018-317592

94. Vyas, M., Firat, C., Hechtman, J. F., Weiser, M. R., Yaeger, R., Vanderbilt, C., Shia, J. 2021. Discordant DNA mismatch repair protein status between synchronous or metachronous gastrointestinal carcinomas: frequency, patterns, and molecular etiologies. *Familial Cancer*. 20(3), 201–213. doi: 10.1007/s10689-020-00210-4

95. Wang, H., Wang, H. S., Zhou, B. H., Li, C. L., Zhang, F., Wang, X. F., Du, J. 2013. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) induced by TNF-alpha requires AKT/GSK-3beta-mediated stabilization of snail in colorectal cancer. *PLoS ONE*. 8(2), e56664. doi: 10.1371/journal.pone.0056664

96. Wang, S.-M., Jiang, B., Deng, Y., Huang, S.-L., Fang, M.-Z., Wang, Y. 2019. Clinical significance of MLH1/MSH2 for stage II/III sporadic colorectal cancer. *World journal of gastrointestinal oncology*. 11(11), 1065–1080. doi: 10.4251/wjgo.v11.i11.1065

97. Wang, Z., Tang, Y., Xie, L., Huang, A., Xue, C., Gu, Z., Zong, S. 2019. The Prognostic and Clinical Value of CD44 in Colorectal Cancer: A Meta-Analysis. *Front Oncol*. 9(309). doi: 10.3389/fonc.2019.00309

98. Wei, C., Yang, C., Wang, S., Shi, D., Zhang, C., Lin, X., Xiong, B. 2019. Crosstalk between cancer cells and tumor associated macrophages is required for mesenchymal circulating tumor cell-mediated colorectal cancer metastasis. *Molecular Cancer*. 18(1), 64. doi: 10.1186/s12943-019-0976-4

99. Wikberg, M. L., Ling, A., Li, X., Oberg, A., Edin, S., Palmqvist, R. 2017. Neutrophil infiltration is a favorable prognostic factor in early stages of colon cancer. *Hum Pathol*(68), 193–202. doi: 10.1016/j.humpath.2017.08.028

100. Witschen, P. M., Chaffee, T. S., Brady, N. A.-O., Huggins, D. N., Knutson, T. A.-O., LaRue, R. S., Schwertfeger, K. L. 2020. Tumor Cell Associated Hyaluronan-CD44 Signaling Promotes Pro-Tumor Inflammation in Breast Cancer. *Cancers (Basel)*. 12(5), 1325. doi: 10.3390/cancers12051325

101. Wong, M. C. S., Huang, J., Lok, V., Wang, J., Fung, F., Ding, H., Zheng, Z.-J. 2021. Differences in Incidence and Mortality Trends of Colorectal Cancer Worldwide Based on Sex, Age, and Anatomic Location. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 19(5), 955–966.e961. doi: https://doi.org/10.1016/j.cgh.2020.02.026

102. Xi, Y., Xu, P. 2021. Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. *Translational Oncology*. 14(10), 101174. doi: https://doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101174

103. Xu, J., Zhang, Y., Xu, J., Wang, M., Liu, G., Wang, J., Nie, G. 2019. Reversing tumor stemness via orally targeted nanoparticles achieves efficient colon cancer treatment. *Biomaterials*. 216(119247). doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.119247

104. Yan, X., Yan, L., Liu, S., Shan, Z., Tian, Y., & Jin, Z. 2015. N-cadherin, a novel prognostic biomarker, drives malignant progression of colorectal cancer. *Mol Med Rep*. 12(2), 2999–3006. doi: 10.3892/mmr.2015.3687

105. Yan, X., Zhao, J., Zhang, R. 2017. Interleukin-37 mediates the antitumor activity in colon cancer through β-catenin suppression. *Oncotarget*. 8(30), 49064–49075. doi: 10.18632/oncotarget.17093

106. Yuan, W., Pan, Q. I., Chen, G., Yan, J., Xia, J., Chen, Y. 2015. E-cadherin expression in a rat model of acute pancreatitis. *Experimental and therapeutic medicine*. 10(6), 2088–2092. doi: 10.3892/etm.2015.2786

107. Zhang, X. F., Zhang, X. Q., Chang, Z. X., Wu, C. C., Guo, H. 2018. microRNA-145 modulates migration and invasion of bladder cancer cells by targeting N-cadherin. *Mol Med Rep*. 17(6), 8450–8456. doi: 10.3892/mmr.2018.8910

108. Zhang, Z., Xu, J., Liu, B., Chen, F., Li, J., Liu, Y., Shen, C. 2019. Ponicidin inhibits pro-inflammatory cytokine TNF-alpha-induced epithelial-mesenchymal transition and metastasis of colorectal cancer cells via suppressing the AKT/GSK-3beta/Snail pathway. *Inflammopharmacology*. 27(3), 627–638. doi: 10.1007/s10787-018-0534-5

109. Zlatian, O. M., Comanescu, M. V., Rosu, A. F., Rosu, L., Cruce, M., Gaman, A. E., Sfredel, V. 2015. Histochemical and immunohistochemical evidence of tumor heterogeneity in colorectal cancer. *Rom J morphol Embryol*. 56(1), 175–181.