

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Jakub Kobecki

Rola wybranych nekryn jako czynników prognostycznych w raku jelita grubego.

Rozprawa doktorska

Promotor: Dr hab. med. Mariusz Chabowski Prof. UM

Promotor pomocniczy: Dr n. med. Paweł Gajdzis

Wrocław, 2023 r.

Chciałbym złożyć najserdeczniejsze podziękowania promotorom – Panu dr hab. n. med. Mariuszowi Chabowskiemu i Panu dr n. med. Pawłowi Gajdzisowi za ich niezastąpione wsparcie, profesjonalną opiekę oraz bezcenne wskazówki podczas całego procesu pisania rozprawy doktorskiej. Bez Państwa zaangażowania i pomocy nie udało by mi się tego zrobić.

Muszę również wspomnieć cały Zespół Kliniki Chirurgicznej 4 Wojskowego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu, którego pasja do leczenia i ratowania ludzi przełożyła się również na niesamowity materiał, będący sercem tej pracy. Ich nauki i chęć pomagania sprawiają, że mogę być lepszym lekarzem.

Chciałbym również podziękować mojej Żonie, która dawała mi mnóstwo motywacji i zawsze służyła pomocą, kiedy byłem zajęty pisaniem tej rozprawy. Pokłady Twojej cierpliwości do mnie wydają się nieograniczone.

Na koniec, chciałbym złożyć serdeczne podziękowania moim Rodzicom, którzy zawsze stali po mojej stronie. Nigdy nie zabrakło mi Waszego wsparcia i miłości.

Spis treści

LISTA UŻYTYCH SKRÓTÓW	5
WSTĘP	7
ZARYS HISTORYCZNY LECZENIA RAKA JELITA GRUBEGO	11
WYBRANE ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE NEKTYN.	14
WYBRANE ZAGADNIENIA DOTYCZĄCE ANATOMII I FIZJOLOGII JELITA GRUBEGO	18
ANATOMIA	18
<i>Kątnica</i>	18
<i>Wstępnica</i>	19
<i>Poprzecznicą</i>	19
<i>Zstępnica</i>	20
<i>Esica</i>	20
<i>Odbytnica</i>	20
<i>Mezorektum</i>	21
<i>Kanał odbytu i odbytu</i>	22
<i>Unaczynienie oraz spływ chłonny</i>	23
<i>Unerwienie</i>	24
BUDOWA ŚCIANY JELITA	25
FIZJOLOGIA	26
WYBRANE ZAGADNIENIA Z ZAKRESU EPIDEMIOLOGII I ETIOLOGII RAKA JELITA GRUBEGO.	27
EPIDEMIOLOGIA	27
<i>Zachorowalność i umieralność</i>	27
<i>Przeżycia</i>	28
ETIOLOGIA	29
<i>Niemodyfikowalne czynniki ryzyka</i>	31
<i>Modyfikowalne czynniki ryzyka</i>	32
WYBRANE ZAGADNIENIA Z ZAKRESU BADAŃ PRZESIEWOWYCH, DIAGNOSTYKI I LECZENIA RAKA JELITA GRUBEGO.	35
BADANIA PRZESIEWOWE	35
<i>Endoskopia</i>	35
<i>Kolonografia CT</i>	36
<i>Badania kału</i>	37
DIAGNOSTYKA RAKA JELITA GRUBEGO.	39
LECZENIE RAKA JELITA GRUBEGO	40
<i>Rak okrężnicy</i>	40
<i>Rak odbytnicy</i>	42
ZAŁOŻENIA I CELE PRACY	45
MATERIAŁ I METODY	46
GRUPA BADANA	46
OCENA PREPARATÓW I BADANIA IMMUNOHISTOCHEMICZNE	48
ANALIZOWANE CZYNNIKI	51
ANALIZA STATYSTYCZNA	53
ZASTOSOWANE OPROGRAMOWANIE	54
WYNIKI	55
OGÓLNA ANALIZA PRZEŻYCIA PACJENTÓW	55
ANALIZA PRZEŻYCIA PACJENTÓW W ZALEŻNOŚCI O MIERZONEJ EKSPRESJI NEKTYN 2,3 I 4	56
EKSPRESJA NEKTYN 2,3 I 4 A POZOSTAŁE MIERZONE ZMIENNE	65

ANALIZA PRZEŻYCIA PACJENTÓW A SKŁADOWE KLASYFIKACJI TNM	73
ANALIZA PRZEŻYCIA PACJENTÓW W ZALEŻNOŚCI O STOPNIA ZAAWANSOWANIA RJG.....	75
ANALIZA PRZEŻYCIA PACJENTÓW W ZALEŻNOŚCI OD LOKALIZACJI, WIELKOŚCI GUZA I STOPNIA ZŁOŚLIWOŚCI HISTOLOGICZNEJ	76
ANALIZA PRZEŻYCIA W ZALEŻNOŚCI OD WYKORZYSTANEJ TECHNIKI OPERACYJNEJ	79
CZAS PRZEŻYCIA A POZOSTAŁE MIERZONE ZMIENNE	80
DYSKUSJA	81
NEKTYNA 2	82
NEKTYNA 3	86
NEKTYNA 4	90
WNIOSKI	98
STRESZCZENIE.....	99
ABSTRACT.....	100
OPINIA KOMISJI BIOETYCZNEJ.....	101
ZGODA KOMENDANTA 4 WOJSKOWEGO SZPITALA KLINICZNEGO WE WROCŁAWIU.....	103
PIŚMIENICTWO	104
SPIS TABEL	114
SPIS RYCIN	117

Lista użytych skrótów

- AJCC – American Joint Committee on Cancer, Amerykański Komitet do spraw Raka
- APC - adenomatous polyposis coli, gruczolakowata polipowatość okrężnicy
- BMI – body mass index, wskaźnik masy ciała
- *BRAF* – gen kodujący białko B-raf
- Ca19-9 – antygen węglowodanowy 19-9
- CAM – cell adhesion molecules, komórkowe cząsteczki adhezyjne
- CEA – carcinoembriogenic antigen, antygen rakowo-płodowy
- CIMP – CpG island methylator phenotype, fenotyp metylatora wysp CpG
- CIN – chromosomal instability, niestabilność chromosomalna
- CRT - chemioradioterapia
- DNA -kwas deoksyrybonukleinowy
- EMA – European Medicines Agency, Europejska Agencja Leków
- EMT – epithelial–mesenchymal transition, przejście epitelialno-mezenchymalne
- ESMO- European Society for Medical Oncology, Europejskie Towarzystwo Onkologii Medycznej
- ESSO – European Society for Surgical Oncology, Europejskie Towarzystwo Chirurgii Onkologicznej
- FAP - Familial adenomatous polyposis, rodzinna polipowatość gruczolakowata
- FDA – Food and Drug Agency, Agencja Żywności i Leków
- FIT -fecal immunochemical test, immunochemiczne badanie kału
- FOBT –fecal occult blood test, test na krew utajoną w kale
- GLOBOCAN – Global Cancer Observatory,
- HNPCC – hereditary nonpolyposis colorectal cancer – dziedziczny rak jelita grubego niezwiązany z polipowatością
- ICD-10 – międzynarodowa statystyczna klasyfikacja chorób i problemów zdrowotnych, 10. rewizja
- IHC – immunohistochemistry, immunohistochemia
- *KRAS* -Kirsten Rat Sarcoma (gen)

- KRN – Krajowy Rejestr Nowotorów
- MET - mesenchymal-epithelial transition przejście mezenchymalno-epitelialne
- MMAE- Monomethyl auristatin E monometylo aurystatyna E
- MMR – mismatch repair – system naprawy źle sparowanych zasad DNA
- MSI – microsatellite instability – niestabilność mikrosatelitarna
- OECD - Organisation for Economic Co-operation and Development,
- OS – overall survival, całkowite przeżycie
- PFS – progression free survival, przeżycie bez progresji choroby,
- PTChO – Polskie Towarzystwo Chirurgii Onkologicznej
- PTOK – Polskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej
- RJG – rak jelita grubego
- RTG – zdjęcie rentgenowskie
- SPECT – tomografia emisyjna pojedynczych fotonów
- TAMIS- transanalna minimalnie inwazyjna chirurgia.
- TaTME- transanal total mesorectal excision, przezzwieraczowe całkowite wycięcie mezorektum
- TcdB – toksyna B Clostridium difficile
- TCGA-The Cancer Genome Atlas Program
- TEM - transanal endoscopic microsurgery, transanalna mikrochirurgia endoskopowa,
- TIGIT – immunoreceptor komórek T z domenami Ig oraz ITIM
- TNM – tumor node metastases, klasyfikacja zaawansowania wg. AJCC/UICC
- UICC – Union for International Cancer Control,
- USG – ultrasonografia
- VEGF – Vascular endothelial growth factor, czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego

Wstęp

Rak jelita grubego (RJG) jest bardzo poważnym problemem zdrowotnym na całym świecie.¹ Według najnowszych statystyk Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), RJG jest trzecim nowotworem na świecie pod względem zapadalności, z szacowaną liczbą 1,93 miliona nowych przypadków rocznie. Ocenia się, że w 2020 r. RJG był odpowiedzialny za 935 000 zgonów co plasuje go na drugim miejscu na świecie pod względem śmiertelności wśród wszystkich chorób nowotworowych.² Pomimo wieloletnich starań, tworzenia programów badań przesiewowych i edukacji społecznej, wciąż większa część RJG rozpoznawana jest w zaawansowanym stadium. Wiąże się to z dużą większą niż oczekiwana chorobowością i śmiertelnością w tej grupie pacjentów. Obserwowany od lat wzrost zachorowalności, w połączeniu z dostępnymi modelami predykcyjnymi dowodzi, że RJG będzie wywierał coraz większy wpływ na życie pacjentów i stanowił rosnące obciążenie krajowych systemów opieki zdrowotnej.³

Rosnąca zapadalność wśród młodszych dorosłych (< 50 lat) sprawia, że prognozy te są jeszcze bardziej niepokojące.⁴ Najwyższe wskaźniki zachorowalności występują w Ameryce Północnej, Oceanii i Europie. Dane te potwierdzają, że częstość występowania RJG jest wyższa w krajach zamożnych niż w tych rozwijających się. Przypisuje się to różnicom w stylu życia mieszkańców (wysoki udział w diecie mięsa i produktów przetworzonych, siedzący tryb życia, wyższy odsetek osób otyłych oraz dłuższej oczekiwanej długości życia w krajach rozwiniętych).⁵

Przytaczane powyżej statystyki globalne znajdują również odzwierciedlenie w polskiej sytuacji onkologicznej. W 2020 r. rozpoznano w Polsce ponad 25 000 nowych przypadków RJG, natomiast szacuje się, że rzeczywisty współczynnik chorobowości wyniósł ponad 75 000 przypadków. Jedynie pacjentki i pacjenci cierpiący na nowotwory złośliwe piersi stanowią liczebniejszą grupę w naszym kraju. Jest to bez wątpienia ogromne wyzwanie dla publicznego systemu ochrony zdrowia.

RJG generuje istotne obciążenia ekonomiczne zarówno w krajach rozwiniętych, jak i rozwijających się. Koszty diagnostyki i leczenia (w tym operacji, chemioterapii i radioterapii) są bardzo wysokie. Ponadto, pacjenci z RJG mogą wymagać długoterminowej opieki, która również wiąże się z dużymi nakładami finansowymi. W krajach o niskich i średnich dochodach,

koszty leczenia RJG mogą przewyższać możliwości systemowe, a tym samym poważnie ograniczać dostępność do niezbędnych świadczeń.

Sytuację pacjentów z RJG utrudniła dodatkowo pandemia COVID-19.⁶ Ograniczenie dostępności do programów badań przesiewowych oraz dramatyczne w skutkach opóźnienia doprowadziły do pogorszenia wyników leczenia. Wiąże się to między innymi z obserwowanym przesunięciem w kierunku bardziej zaawansowanej choroby nowotworowej w momencie rozpoznania.^{6,7} Od lutego 2022 r. polski system ochrony zdrowia stanął przed kolejnym wyzwaniem, jakim jest zapewnienie opieki uchodźcom z zaatakowanej Ukrainy. Kryzys migracyjny wywołany wojną w Ukrainie związany jest również ze zwiększeniem liczby pacjentów onkologicznych.^{8,9} Wymienione sytuacje dowodzą jak ważne jest dążenie do wynalezienia skuteczniejszych metod wykrywania i leczenia RJG.

Wiedza na temat czynników ryzyka, czynników prognostycznych, diagnostyki i sposobów leczenia RJG jest nieustannie udoskonalana, jednak wskaźniki 5-letnich przeżyć u pacjentów chorujących na RJG nie ulegają zadowalającej poprawie na przestrzeni ostatnich lat.¹⁰ Różnice w przeżywalności wśród pacjentów klasyfikowanych w tych samych stopniach zaawansowania sugerują, że na przebieg RJG mają wpływ wieloczynnikowe i złożone procesy. Poszukiwanie nowych czynników prognostycznych lub predykcyjnych, daje nadzieję na stworzenie indywidualnej dla każdego pacjenta strategii terapeutycznej.

Cząsteczki błon komórkowych są od wielu lat punktem zainteresowania wielu badaczy w aspekcie ich klinicznego znaczenia w chorobach nowotworowych. Dobrym przykładem jest antygen rakowo-płodowy – CEA, którego oznaczanie znajduje się obecnie w wielu standardach postępowania. Służy między innymi do monitorowania pacjentów po leczeniu, mogąc wskazywać na istnienie choroby resztkowej lub alarmować o możliwej wznowie procesu nowotworowego. Mutacje w obrębie cząsteczek, pierwotnie rozpoznane jako negatywne czynniki rokownicze (np. EGFR, HER2), mają szansę stać się punktami zaczepienia terapii celowanych.¹¹ Na przykładzie pacjentów z rakiem piersi możemy obserwować jak bardzo zmieniło się znaczenie kliniczne ekspresji receptorów HER2 – z dostępnymi aktualnie lekami pacjenci HER2 „dodatni” mają szansę na dłuższe przeżycie niż pacjenci HER2 „ujemni”. Daje to nadzieję i zachęca do szukania i odkrywania kolejnych potencjalnych kandydatów wśród tysięcy cząsteczek komórkowych.

Komórkowe cząsteczki adhezyjne (cell adhesion molecules) odgrywają rolę w diagnostyce i służą do opracowywania nowych strategii leczenia RJG.^{12,13} Obszar badań nad białkami adhezyjnymi w szeroko pojętej chorobie nowotworowej jest bardzo rozwojowy.

Nektyny i cząsteczki podobne do nektyn (Necls) należą do immunoglobulinopodobnych transbłonowych komórkowych cząsteczek adhezyjnych, które odpowiadają za tworzenie połączeń międzykomórkowych oraz regulują podstawowe funkcje komórkowe, takie jak proliferacja czy apoptoza.¹⁴ Zgodnie z dostępną literaturą naukową, chorobom nowotworowym może towarzyszyć istotna zmienność ekspresji nektyn na powierzchni komórek guza. Znaczenie tej zmienności i potencjalne kliniczne wykorzystanie w RJG nie zostało dotychczas dobrze zbadane. Nadziej napawa fakt, że w 2019 r. amerykańska FDA (Food and Drug Administration) zaakceptowała wykorzystanie koniugatu leku przeciwnowotworowego z przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciw nektynie 4 w leczeniu rozsialego raka urotelialnego.¹⁵ Poszerzenie wiedzy dotyczącej ekspresji nektyn i ich zastosowania w roli biomarkerów nowotworowych, w tym RJG, staje się wobec powyższego ważnym obiektem badań.

Przyszłość należy prawdopodobnie do zaawansowanych narzędzi statystycznych, które będą mogły błyskawicznie uporządkować dostępne wyniki licznych biomarkerów. Ułatwi to lekarzom analizę ich skomplikowanych konstelacji i łączenie indywidualnych i odrębnych cech w bardziej praktyczne grupy. Doskonałym przykładem jest „zgodna klasyfikacja podtypów molekularnych RJG” (Consensus Molecular Subtypes in Colorectal Cancer – CMS) jako instrument prognostyczny i, co najważniejsze, predykcyjny.^{16,17}

Leczenie chirurgiczne pozostaje nadal podstawowym i często pierwszym narzędziem terapeutycznym w RJG. Usunięcie ogniska pierwotnego we wczesnych stadiach zaawansowania daje największe szanse na całkowite wyleczenie. Na przestrzeni ostatnich 30 lat techniki operacyjne ewoluowały. Zakres resekcji nie uległ zasadniczej zmianie, natomiast dostępny operacyjny i wykorzystywane do przeprowadzania operacji narzędzia skierowały chirurgię kolorektalną w kierunku chirurgii małoinwazyjnej, precyzyjniej nazywanej chirurgią minimalnego dostępu (minimal access surgery, keyhole surgery).^{18,19}

Największą przewagę w walce z RJG dać może wykorzystanie wiedzy o indywidualnym charakterze nowotworu w połączeniu z aktualnym stanem klinicznym chorego. Wiedza dotycząca dostępnych opcji i przebiegu leczenia daje w obliczu potencjalnie śmiertelnej

choroby nowotworowej możliwość podejmowania bardziej świadomych i spersonalizowanych decyzji.^{20,21}

Niniejsza praca ma na celu ocenę ekspresji wybranych nekryn i ich znaczenia prognostycznego w grupie pacjentów leczonych chirurgicznie z powodu RJG w Klinice Chirurgicznej 4 Wojskowego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu (4WSK) w latach 2013-2015. Ośrodek, w którym mam przywilej pracować na co dzień, ma długą tradycję leczenia schorzeń jelita grubego. 4 WSK od wielu lat spełnia standardy kompleksowej opieki nad pacjentami z nowotworami jelita grubego. Od 01.06.2021 r. Klinika Chirurgiczna 4 WSK wchodzi w skład szpitalnego Centrum Kompetencji Raka Jelita Grubego. Jednak nawet przed wprowadzeniem w życie rozporządzenia o Centrach Kompetencji, Klinika Chirurgiczna spełniała kryteria ośrodka doświadczonego (high volume center).^{22,23} Prowadzona w Klinice w formie papierowej i cyfrowej szczegółowa dokumentacja medyczna pozwoliła na szeroką retrospektywną analizę ekspresji wybranych nekryn w preparatach histopatologicznych, stanowiącą przedmiot niniejszej rozprawy.

Zarys historyczny leczenia raka jelita grubego.

Choroby nowotworowe towarzyszą ludziom od zarania dziejów. Bazując na doniesieniach z wykopalisk archeologicznych, ślady guzów nowotworowych znaleźć można także w skamielinach dinozaurów.²⁴ Opisy chorób nowotworowych i namacalne dowody w postaci szczątków naszych antycznych przodków (poddane analizie paleopatologicznej), nie pozostawiają złudzeń, że schorzenia onkologiczne nie były im obce.²⁵

Pierwszy opis choroby nowotworowej (wraz z opisami wielu technik chirurgicznych) zawdzięczamy autorom datowanego na 1600 r. p.n.e. papirusu Edwina Smitha – przytaczane są tam przykłady nieuleczalnych guzów piersi.²⁶ Za ojca antycznej onkologii uznać można Hipokratesa, który nadał rakowi nazwę (gr. *καρκινος* – *carcinus*, pl. *krab*) i wyodrębnił jako jednostkę chorobową z jej powikłaniami miejscowymi i odległymi. Postulowana przez niego teoria humoralna, modyfikowana przez kolejnych wielkich historycznych medyków, przez stulecia stanowiła podstawę teoretyczną etiopatologii – w tym guzów jelita grubego. Sam Hipokrates twierdził, że „wszelkie choroby zaczynają się w jelitach”.²⁷ Plinius swoim pacjentom z guzami jelit zalecał spożywanie mieszanki fig z węglem – co mogło w pewien sposób oddalać perspektywę śmiertelnej niedrożności jelit. Za czasów Leonidasa z Aleksandrii i Galena (któremu zawdzięczamy m.in. upowszechnienie terminu gr. *oncos* – obrzęk) dysponowano ograniczonymi możliwościami, a leczenie chorób nowotworowych ograniczało się do nacinania i powtarzalnej kauteryzacji zmian powierzchniowych, aż do zniszczenia w całości tkanki neoplastycznej. Tym samym już 2000 lat temu znana była podstawowa zasada chirurgii onkologicznej – usunięcie ogniska nowotworowego z marginesem zdrowych tkanek.¹⁸

Manipulacje chirurgiczne w obrębie jamy brzusznej ograniczały się wyłącznie do zaopatrywania obrażeń – z opisów indyjskiego lekarza Sushruty możemy dowiedzieć się o próbach zamykania ściany przeciętego jelita z użyciem mrówek jako „antycznych staplerów”. Przez wiele kolejnych stuleci pacjenci z chorobami rozwijającymi się w zakresie jelit nie znajdowali skutecznego leczenia u cyrulików. Jama brzuszna pozostawała obszarem *tac. noli me tangere* (nie dotykaj mnie). Pacjenci rozwijający objawy ostrego brzucha pozostawiani byli naturalnemu przebiegowi choroby.¹⁸ John Arderne, uznany za pierwszego proktologa, skłaniał się jedynie ku lokalnemu wycinaniu guzów odbytnicy, ponieważ jak sam pisał, nie widział w swojej karierze pacjenta, który zostałby uleczony z raka odbytnicy.²⁸

Rozwój medycyny uległ spowolnieniu wraz z nastaniem średniowiecza. Zakazane dekretami papieskimi sekcje zwłok ograniczały postępy chirurgii. Poza Europą, w której powoli zaczęła rozwijać się idea szpitalnictwa, pacjenci cierpiący na RJG nie mogli liczyć na skuteczną pomoc aż do czasów przełomowych odkryć z zakresu antyseptyki Josepha Listera i znieczulenia Williama Mortona.

To właśnie XIX w., zwany również stuleciem chirurgów, przyniósł niesamowity progres, między innymi w chirurgii onkologicznej. Możliwe stało się kontrolowanie procesu nowotworowego poprzez całkowite usunięcie zmian lokalnych. Jedne z pierwszych, skutecznych metod wykonywania stomii jelitowych – sztucznych odbytów – zawdzięczamy opisom francuskiego chirurga Jean Amussata. Odbarczenie niedrożnego przewodu pokarmowego dało szansę pacjentom na przeżycie i otworzyło kolejny rozdział w rozwoju chirurgii kolorektalnej. Publikacje o technice szycia zespołań jelitowych autorstwa Antoine Lemberta, Theodora Kochera, Gregorego Conella zachęcały do coraz śmielszych zabiegów onkologicznych. W przytaczanym okresie resekcje guzów odbytnicy odbywały się głównie od strony krocza – zabiegi te obarczone były mniejszą śmiertelnością niż operacje brzuszne, jednak cechowały się bardzo wysokim odsetkiem wznów miejscowych sięgających do 90%.²⁴ Z początkiem XX w. Ernest Miles rozpoczął wykonywanie brzuszno-kroczych zabiegów usunięcia odbytnicy, a Jan Mikulicz-Radecki prezentował koncepcję dwuetapowego usunięcia guzów okrężnicy. Dorobek naukowy Mikulicza-Radeckiego w złotej erze chirurgów wykracza znacznie poza zabiegi jelitowe. Jego wkład w aseptykę i antyseptykę, nowatorskie techniki operacyjne oraz narzędzia wykorzystywane do dziś, w połączeniu z niesamowitą intuicją chirurgiczną stawiają go w jednym rzędzie z najwybitniejszymi chirurgami w dziejach.²⁹

Na przełomie XIX i XX w. zmniejszyła się w stopniu istotnym okołooperacyjna śmiertelność pacjentów. Jednak skuteczność ich leczenia ograniczona była przez wznowy miejscowe i przerzuty odległe, które zwykle wykraczały poza możliwości zabiegowe. Średnia długość życia pacjentów z RJG nadal nie różniła się bardzo od tej sprzed 2000 lat – poprawiła się natomiast jakość życia. Koniec XIX w. przyniósł odkrycia Wilhelma Roentgena i Marii Skłodowskiej-Curie. Promieniowanie jonizujące znalazło zastosowanie w terapii raka odbytnicy, jednak nie zmieniło znacząco długości życia pacjentów. Badania nad skutecznym lekiem przeciwnowotworowym prowadzone były bardzo intensywnie. Wśród wynalezionych preparatów należy wymienić gaz musztardowy, rtęć, ołów, metotreksat – choć skuteczne w wybranych chorobach hematologicznych, nie znalazły zastosowania w leczeniu RJG. Dopiero

rok 1957 przyniósł długo oczekiwany chemioterapeutyk – fluorouracyl - znany i nadal stosowany w chemioterapii RJG.³⁰ To właśnie dzięki terapiom neoadjuwantowym i adjuwantowym możliwe stało się wydłużanie czasu przeżycia i poprawa ogólnych wyników leczenia onkologicznego.

XX w. przyniósł także udoskonalenia w technice badań obrazowych. Rozwój tomografii komputerowej w latach 70-tych (Godfrey Haunsfield, Allan Cormack) pozwolił na niespotykaną dotychczas dokładność diagnostyki obrazowej i zmniejszenie liczby niepotrzebnych laparotomii w przypadkach nieoperacyjnych. Równoległe do praktyki klinicznej dołączyły giętkie endoskopy, z którymi diagnostyka schorzeń jelita grubego osiągnęła nowy poziom. Zaowocowało to lepszym zrozumieniem ewolucji RJG – transformacji nowotworowej, karcynogenezy.³¹

Aktualne metody diagnostyczne i algorytmy leczenia RJG w dużej mierze polegają na udoskonalonych odkryciach XIX i XX w. Spojrzenie na znaną nam historię chorób nowotworowych potwierdza tylko, że podwaliny wiedzy i leczenia onkologicznego wywodzą się w prostej linii z praktyk chirurgicznych.

Wybrane zagadnienia dotyczące nektyń.

Tworzenie połączeń i komunikacja między komórkami to podstawowe warunki istnienia organizmów wielokomórkowych, właściwej ontogenezy oraz regeneracji tkankowej. W metazoa odpowiadają za to różnorodne komórkowe cząsteczki adhezyjne, będące powierzchniowymi glikoproteinami.³² Wykorzystywaną w standardowej diagnostyce RJG cząsteczką adhezyjną jest antygen karcynoembrionalny (CEA).³³

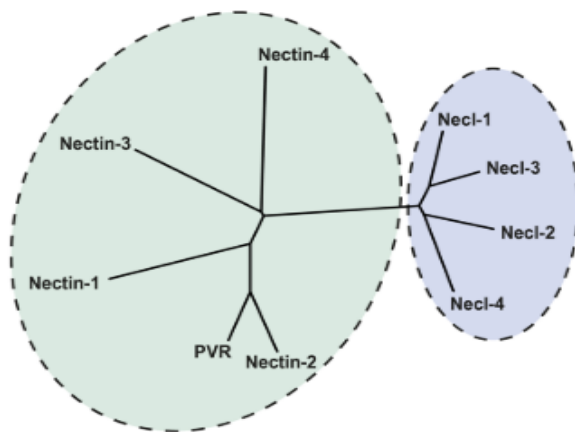
Nektyny i cząsteczki podobne do nektyń (Necns) to immunoglobulinopodobne (Ig-like) transbłonowe cząsteczki adhezyjne, które biorą udział w tworzeniu, niezależnych od jonów wapnia, połączeń międzykomórkowych. Ponadto, poprzez liczne oddziaływania między sobą i pomiędzy cząsteczkami innych rodzajów, odpowiadają za ruchliwość, proliferację, różnicowanie, polaryzację i apoptozę komórek. Pierwsi przedstawiciele rodziny nektyń zidentyfikowani zostali w 1986 roku jako białka związane z receptorami wirusa Polio (PRR – poliovirus receptor related proteins).³⁴

Tabela 1. Różne nazewnictwo nektyń i Necn-5 oraz ich funkcje jako receptory wejścia dla wirusów

Cząsteczka	Inne nazwy	Receptory wejściowe dla wirusów
Nektyna 1	CD111, PVRL-1, PRR-1, HVEC	HSV-1 ¹ , HSV-2 ² , PRV ³ , BoHV-1 ⁴
Nektyna 2	CD112, PRVL-2, PRR-2, HVEB	HSV-1 ¹ , HSV-2 ¹ , PRV ³ , HHV-6B ⁵
Nektyna 3	CD113, PRVL-3, PRR-3	-
Nektyna 4	PVRL-4, PRR-4,	MeV ⁶
Cząsteczka podobna do nektyny 5	CD155, PVR, Tage4	PV ⁷

¹ Herpes simplex virus 1, ² herpes simplex virus 2, ³ pseudorabies virus, ⁴ bovine herpes virus-1, ⁵ human herpesvirus 6B, ⁶ measles virus, ⁷ poliovirus.

Badania nad strukturą pierwszorzędową wykazały, wspólne dla nektyń i Necns, domeny immunoglobulinowe i tym samym zakwalifikowane zostały do nadrodziny immunoglobulin (Immunoglobulin superfamily). Dalej wykazano, że białka te posiadają wspólnie cechy komórkowych cząsteczek adhezyjnych – stąd nazwa „*nectins*”, która pochodzi z łacińskiego „*necto*” co oznacza „związać”.³⁴ Obecnie wyróżniamy dwie grupy – nektyny (1-4) oraz białka podobne do nektyń (1-5). Pośród nich, cząsteczka podobna do nektyny 5, posiada cechy łączące oba zbiory.³⁵ Analiza sekwencji nukleotydów i struktury nektyń w dostępnych biologicznych bazach danych wskazuje na silny konserwatyzm międzygatunkowy. Podobieństwo tych białek u kręgowców i ich przodków podkreśla jak istotną rolę odgrywają w funkcjonowaniu organizmów.³⁶ (Rycina 1)



Rycina 1 drzewo filogenetyczne ludzkich analogów nektyn i Necls. Źródło: Duraivelan, K. & Samanta, D. Tracing the evolution of nectin and nectin-like cell adhesion molecules. *Sci Rep* 10, 1–9 (2020).

Nektyny zdolne są do tworzenia homo- i heterofilnych adhezyjnych połączeń międzykomórkowych za pośrednictwem swoich domen zewnątrzkomórkowych. Na powierzchni błony komórkowej tworzą krótkotrwałe, niestabilne, jednoimienne pary, które rozdzielają się w przypadku interakcji z cząsteczkami na błonie przeciwległej komórki. Reakcje heterofilne są selektywne (np. nektyna 3 może oddziaływać z nektynami 1 i 2, jednak nie oddziaływać z nektyną 4). Selektywność zależy prawdopodobnie od rezydualnego ładunku elektrostatycznego, który mieści się na powierzchni adhezyjnej każdego białka. Implikuje to tworzenie połączeń tylko między białkami o przeciwnych ładunkach, jak również niską stałą dysocjacji wspomnianych przejściowych homo-cis par.^{37,38} Po ukonstytuowaniu połączenia nektyna-nektyna, rozpoczyna się rekrutacja kolejnych rodzajów cząsteczek adhezyjnych – np. kadheryn. Połączenia między nektynami są znacznie słabsze niż te między kadherynami i dzięki temu podlegają większej dynamice zmian. W złożonym procesie tworzenia się połączeń komórkowych biorą również udział cząsteczki pośredniczące - takie jak białka wiążące aktynę (alfa-katenina, afadyna i winkulina), które oddziałują z nektynami poprzez ich domeny cytoplazmatyczne. Wiąże się to z reorganizacją cytoszkieletu aktynowego. Możliwe jest również tworzenie połączeń międzykomórkowych niezależnych od kadheryn i integryn – skupiska takich oddziaływań otrzymały swoją osobną nazwę – nectin spots – ze względu na charakterystyczny obraz wzoru immunofluorescencji widoczny pod mikroskopem.³⁹ Podsumowując, nektyny biorą udział, wspólnie z kadherynami i integrynami, w inicjowaniu oraz tworzeniu połączeń zwierających (adherence junctions). Dzięki swoim właściwościom,

nektyny pozwalają na tworzenie połączeń homo- i heterotypowych między komórkami w obrębie tkanek (także o charakterze mozaikowym).¹⁴

Kolejną bardzo istotną funkcją nektyn i Necls jest udział w nawiązywaniu połączeń pomiędzy komórką a macierzą zewnątrzkomórkową (ECM- extracelullar matrix). To właśnie poprzez oddziaływanie z integrynami (głównie integryną $\alpha\beta3$) nektyny wpływają na tak zwane „przebiecia” (crosstalk) pomiędzy połączeniami zwierającymi (komórka-komórka) a połączeniami z komórka – macierz zewnątrzkomórkowa.^{40,41} Hodowle komórkowe potwierdzają, że zaburzona ekspresja cząsteczek adhezyjnych (w tym nektyn) wiąże się z intensyfikacją procesu przejścia epitelialno-mezenchymalnego (EMT - epithelial-mesenchymal transition), który jest charakterystyczny dla niektórych komórek nowotworowych. Dzięki EMT komórki zyskują zwiększoną mobilność, właściwości inwazyjne, odporność na apoptozę. Indukcja i regulacja EMT jest bardzo złożona i mają na nią wpływ liczne szlaki komórkowe.⁴²

Na przykładzie cząsteczki Necl-5 zaobserwowano gromadzenie się homo-cis dimerów tych białek na brzegu wiodącym migrującej komórek. W przypadku trans-interakcji z cząsteczkami powierzchniowymi napotkanej, komplementarnej komórki, następuje proces hamowania kontaktowego poprzez „regulację w dół” Necl-5 i formację połączeń zwierających. Procesy te regulowane są poprzez kaskadę sygnałów przekazywanych za pomocą *FAK* i *c-Src*, a następnie *cDc42* i *Rac small G* – dokładne procesy i zmiany zachodzące w komórkach wykraczają znacznie poza zakres niniejszej pracy.⁴³ Utrata sprawnego mechanizmu hamowania kontaktowego, niestabilność połączeń komórka-komórka i komórka- macierz zewnątrzkomórkowa może odpowiadać za właściwości nowotworów takie jak inwazyjność i zdolność do przerzutowania.^{33,44-47}

W dostępnej literaturze można spotkać przykłady publikacji łączących mutacje w obrębie genów kodujących nektyny i Necls z chorobami. Wśród przykładów znajdują się dysplazje ektodermalne, choroba Alzheimera, astma i zaćma.⁴⁸ Zaburzenia w obrębie tkanek pochodzenia ektodermalnego, takiego jak rozszczep warg i podniebienia, malformacje zębów – występujące także jako zespoły Zlotogora-Ogura (CLPED1) lub zespół Wysp Margoryta (CLPED2) – związane są z mutacjami genu nektyny 1 na 11 chromosomie.⁴⁹

Nektyny i Necls prezentują cechy zarazem onkoprotein i białek hamujących rozwój guzów w zależności od badanego typu nowotworu. W wielu badaniach wykazano, że ekspresja wybranych nektyn i Necls wiąże się z większą złośliwością komórek nowotworowych. Z drugiej strony nie brakuje doniesień w literaturze, że obniżona ekspresja lub utrata ekspresji nektyn i

Nec1 są powiązane z bardziej agresywnym charakterem guzów nowotworowych. Dla przykładu, niska ekspresja nektyny 3 w komórkach guzów neuroendokrynnych trzustki wskazywana była jako negatywny czynnik prognostycznym.⁵⁰ Czy jest to związane z zaburzeniem architektury połączeń komórkowych i jednocześnie zwiększeniem mobilności komórek raka? W chwili obecnej nie ma ogólnego konsensusu co do znaczenia i funkcji nektyń i Nec1s w chorobach nowotworowych. Opublikowane wyniki badań naukowych często pozostają w jawnej sprzeczności między sobą. Dowody pochodzące z dostępnych badań narażone są na liczne błędy metodologiczne. Samo określenie prawidłowej ekspresji nektyń w „zdrowych” tkankach nie jest jednoznaczne. Dodatkowo występują różnice w ekspresji nektyń i Nec1s pomiędzy tkankami płodowymi a tkankami osobników dojrzałych.

Nektyny zaangażowane są w wiele istotnych fizjologicznych procesów a także biorą udział w inicjacji i ewolucji chorób nowotworowych. Nasze zrozumienie ich roli i potencjalnego zastosowania w terapii przeciwnowotworowej jest dalekie od pełnego.

Wybrane zagadnienia dotyczące anatomii i fizjologii jelita grubego

Anatomia

Jelito grube jest organem o długości ok. 150 cm (podlega ona dużej zmienności osobniczej) i zalicza się do dolnego odcinka przewodu pokarmowego. Jest położone w jamie brzusznej i jamie miednicy. Rozpoczyna się zastawką krętniczo-kątniczą (zastawką Bauhina) i kończy na wysokości linii grzebieniastej. Cechą charakterystyczną jelita grubego jest obecność taśm oraz przyczepków sieciowych. Taśmy okrężnicy (taeniae coli) to 3 widoczne z zewnątrz wstęgi biegnące wzdłuż jelita grubego aż do wysokości odbytnicy, gdzie przechodzą w rozproszone, podłużne włókna mięśniowe. Taśmy odpowiadają za tworzenie typowych dla okrężnicy haustracji. Przyczepki sieciowe (appendices epiploicae) to pokryte otrzewną kępki tkanki tłuszczowej umocowane do części śródtrzewnowej okrężnicy. Ich rola nie jest do końca znana. Nie występują w obrębie odbytnicy.⁵¹ W obrębie jelita grubego wyróżnia się specyficzne odcinki.

Kątnica

Początkowy odcinek jelita grubego, który łączy się bezpośrednio z jelitem krętym to kątnica (caecum, jelito ślepe). Położona jest częściowo zaotrzewnowo lub śródtrzewnowo (tu również występuje duża zmienność osobnicza) i stanowi najszerszy fragment jelita grubego – do 8 cm szerokości i ok. 6 cm długości. Jest to również część najbardziej narażona na przedziurawienie w przypadku niedrożności przewodu pokarmowego powodującej rozdęcie jelita grubego. Dwoma ważnymi strukturami łączącymi się z kątnicą jest zastawka krętniczo-kątnicza oraz wyrostek robaczkowy. Zastawka zapobiega cofaniu się treści jelitowej (w tym miejscu jest to papka częściowo strawionego pokarmu – chymus) w kierunku przeciwnym do fizjologicznej perystaltyki.⁵²

Wyrostek robaczkowy, adekwatnie do nazwy, jest cienkim i podłużnym (średnio ok. 9cm długości i do 6mm średnicy) narządem bogatym w tkankę limfatyczną (GALT – gut associated lymphoid tissue), która odgrywa rolę w dojrzewaniu limfocytów B. Ujście wyrostka znajduje się w ślepym końcu kątnicy, dokładnie w miejscu łączenia się taśm kątnicy. Precyzyjna rola wyrostka robaczkowego w ludzkim organizmie nie jest znana. Appendektomia nie niesie za sobą żadnych dobrze udokumentowanych powikłań w kontekście immunologicznym, chociaż

obserwowane ryzyko zachorowania na wrzodziejące zapalenie jelita grubego jest mniejsze u osób po appendektomii.⁵³

Wstępnica

Powyżej kątnicy znajduje się okrężnica wstępująca (inaczej wstępnica) - położona częściowo zaotrzewnowo, o długości ok. 16 cm część okrężnicy sięgająca do zgięcia wątrobowego. Miejsce łączenia otrzewnej trzewnej i otrzewnej ściennej od strony bocznej wstępnicy tworzy charakterystyczną białą linię Toldta.⁵⁴ Stanowi ona wejście do beznacyniowej przestrzeni nazywanej przestrzenią Toldta i będącej właściwą płaszczyzną preparowania i uwalniania prawej połowy okrężnicy w trakcie zabiegów operacyjnych. Eponim zawdzięczamy odkryciom austriackiego anatoma Carla Toldta, który postulował istnienie zachowującej ciągłość krezki przewodu pokarmowego od dwunastnicy do odbytnicy. Oznacza to, że możliwe jest wyodrębnienie struktur pełniących funkcje krezek w odcinkach jelita traktowanych jako położone zaotrzewnowo. Krezki tych odcinków jelita uległy „spłaszczeniu i wprasowaniu” chociaż nadal pozostają oddzielone od tylnej ściany jamy brzusznej przez warstwę nazywaną przestrzenią Toldta. Do przodu od powięzi Toldta znajduje się płaszcz tkanki tłuszczowej i włóknistej, zawierający naczynia, nerwy i węzły chłonne jelita- mezokolon. Jest to jedna z bardziej istotnych struktur anatomicznych w chirurgii kolorektalnej oraz obiekt zaciętej dyskusji dotyczącej prawidłowej nomenklatury anatomicznej (nazywana również: powięzią Toldta, powięzią fuzji, powięzią podotrzewnową głęboką, powięzią okołonerkowa przednia).⁵⁵ Podczas wykonywania zabiegów operacyjnych w obrębie prawej połowy okrężnicy trzeba mieć na uwadze sąsiedztwo ważnych struktur: leżący do tyłu od kątnicy i wstępnicy prawy moczowód, naczynia gonadalne i bardziej dogłowowo leżąca dwunastnica.

Poprzecznicza

Idąc dalej napotkamy zgięcie wątrobowe okrężnicy i okrężnicę poprzeczną (zwaną poprzecznicą). Więzadło wątrobowo-okrężnicze stanowi fałd otrzewnej schodzący z sieci mniejszej i dolnej powierzchni wątroby na okrężnicę. Poprzecznicza jest położona w jamie otrzewnej i posiada dobrze wykształconą krezkę. Więzadło żołądkowo-okrężnicze płynnie przechodzi w sieć większą, która przyczepia się do przedniej powierzchni poprzecznicy. Do tyłu i dogłowowo od poprzecznicy leżą dwunastnica i trzustka. Przestrzeń ograniczona poprzez

krezkę poprzecznicę, więzadło żołądkowo-okrężnicze, więzadło wątrobowo-żołądkowe i od tyłu przez tylną ścianę jamy brzusznej nazywa się torbą sieciową (bursa omentalis).⁵⁶

Na poziomie 2/3 długości poprzecznicę występuje granica pomiędzy fragmentami dolnego odcinka przewodu pokarmowego, które rozwinęły się odpowiednio z jelita środkowego i tylnego w trakcie embriogenezy.⁵² Linia ta dzieli okrężnicę na prawą i lewą połowę. Ma to konsekwencje kliniczne: z punktu widzenia chirurgicznego fragmenty te mają oddzielne źródło unaczynienia i odmienny spływ chłonny, natomiast guzy nowotworowe prawej i lewej okrężnicy różnią się m.in. pod względem rokowania.⁵⁷

Zstępnica

Poprzecznicę kończy się zgięciem śledzionowym, które łączy się więzadłami śledzionowo- i przeponowo-okrężniczymi ze śledzioną i przeponą. Dalej jelito przechodzi w okrężnicę zstępującą (zstępnicę). Podobnie jak po stronie prawej, bocznie od częściowo zaotrzewnowo leżącej zstępnicy występuje widoczna linia Toldt. Tutaj również, do tyłu od zstępnicy, przebiegać będzie lewy moczowód i naczynia gonadalne.

Esica

Kolejnym, przedostatnim odcinkiem jest okrężnica esowata (esica). Położona wewnątrzotrzewnowo esica stanowi odcinek o bardzo dużej zmienności osobniczej pod względem długości (od 15 do 50 cm) i lokalizacji. Długie pętle esicy potrafią sięgać znacznie poza lewy dolny kwadrant jamy brzusznej. Tym samym choroby tego odcinka jelita grubego mogą mieć podstępny charakter kliniczny. Esica jest miejscem najczęstszego występowania uchyłków jelita grubego.

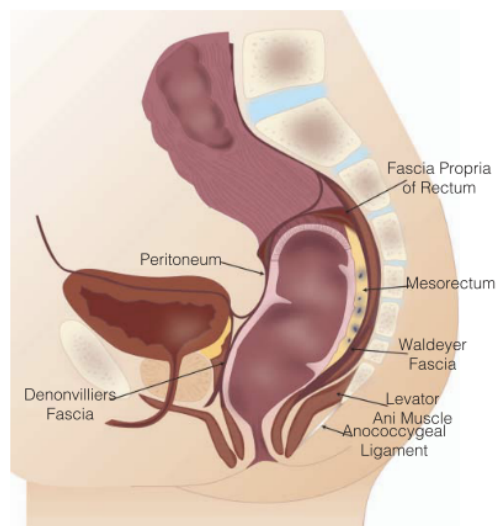
Odbytnica

Końcowym odcinkiem jelita grubego jest odbytnica (inaczej zwana prostnicą). Górna granica odbytnicy nie jest łatwa do zidentyfikowania. Z punktu widzenia operującego chirurga odbytnica zaczyna się w miejscu, gdzie taśmy esicy zanikają – ulegają rozproszeniu. Dzieje się to typowo na poziomie wyniosłości kości krzyżowej. W przybliżeniu 1/3 - 1/2 proksymalna odbytnicy leży wewnątrzotrzewnowo, natomiast pozostała część poniżej załamka otrzewnej,

jest całkowicie zewnątrztrzewnowa. Odbytnica kończy się w miejscu wyczuwalnego zgrubienia spowodowanego przewieszeniem odbytnicy na części łonowo-odbytniczej mięśnia dźwigacza odbytu. Długość odbytnicy jest trudna do oszacowania i zależy od metody badania. Za pomocą sztywnego endoskopu pomiary wskazują średnio 12-16 cm od brzegu odbytu. Rozróżnienie pomiędzy tymi dwoma odcinkami jelita jest istotne ze względu na odrębne postępowanie terapeutyczne w przypadku występowania nowotworu.⁵⁸ Nazwa prostnica jest myląca ze względu na zgięcia jakim ulega w płaszczyźnie czołowej (2 w lewo i 1 w prawo) i strzałkowej (zgięcie krzyżowe i kroczone). Zgięcia w płaszczyźnie czołowej odpowiadają lokalizacjom wewnętrznych fałdów błony śluzowej – zastawkom Houstona.⁵¹

Mezorektum

Istotnym aspektem anatomicznej budowy odbytnicy jest mezorektum będące tkanką tłuszczową bezpośrednio przylegająca do odbytnicy i zawierająca naczynia krwionośne, nerwy układu przy- i współczulnego oraz węzły chłonne. Oddzielona jest od reszty miednicy poprzez cienką powięź mezorektum (powięź trzewna). Powięź trzewna połączona jest z warstwą luźnej tkanki łącznej o strukturze „anielskich włosów” i jest właściwą warstwą preparowania w

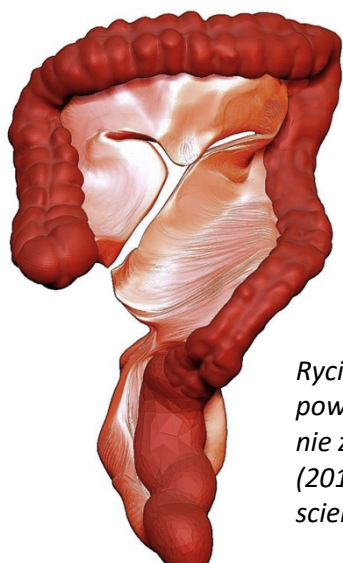


Rycina 2 Odbytnica i struktury sąsiadujące - przekrój strzałkowy. Źródło: Lamb, M. N., & Kaiser, A. M. (2015). Anatomy, Physiology, and Measurement of Physiologic Function for Colorectal Surgery. DeckerMed Surgery. <https://doi.org/10.2310/surg.2268>

trakcie zabiegów resekcyjnych. Od przodu ogranicza ją powięź Denonvilliersa (oddziela mezorektum od tylnej części pochwy u kobiet lub od pęcherzyków nasiennych i prostaty u

mężczyzn). (rycina X) Z tyłu od mezorektum otwiera się przestrzeń zaodbytnicza odgraniczona od kości krzyżowej powięzią Waldeyera. W literaturze chirurgicznej ta płaszczyna preparowania nazywana jest „świętą” lub płaszczyną TME (total mezorektum excision). Powieź mezorektum przylega do bocznej ściany miednicy w strefie ponad i wzdłuż naczyń biodrowych.⁵⁹

Z punktu widzenia anatomii opartej na ontogenezie, mezorektum to struktura wywodząca się z tego samego fragmentu jelita pierwotnego co krezka kątnicy, poprzecznicy i esicy. Przedrostek „meso-” implikuje strukturę „pomiędzy” – w tym przypadku pomiędzy



Rycina 3 Komputerowo stworzony model 3D jelita grubego wraz z powierzchniami mezokolon i mezorektum. Dla przejrzystości grafiki nie zostało zwizualizowane jelito cienkie. Źródło: Coffey, J. C. (2013). Surgical anatomy and anatomic surgery - Clinical and scientific mutualism.

blaszkami otrzewnej, tak jak ma to miejsce w kreskach organów leżących w całości w jamie otrzewnej.⁶⁰ Nieścisłości terminologiczne dotyczące mezokolon i mezorektum nie zmieniają faktu, że złotym standardem i istotą skutecznego leczenia onkologicznego jest usuwanie tych struktur *en bloc*. (rycina X) W kontekście łatwiejszego zrozumienia złożonej budowy, unifikacji opisów zabiegów operacyjnych, łatwiejszego raportowania danych i bardziej przejrzystego procesu szkolenia chirurgów w zabiegach w obrębie odbytnicy, ważne jest, aby doprowadzić do ujednoczenia terminologii anatomicznej.⁶¹

Kanał odbytu i odbyt

Definicje kanału odbytu różnią się znacznie między anatomami i chirurgami, niemniej jest to ostatnia część jelita grubego, położona między odbytnicą a odbytem. Chirurgiczny kanał odbytu odzwierciedla opisywany podczas badania palcem fragment 2-4 cm od brzegu odbytu do wyczuwalnego połączenia odbytniczo-odbytowego. Anatomiczny kanał jest dłuższy, u dorosłych ma około 3-6 cm długości i rozpoczyna się strefą przejściową, mniej więcej 6-12 mm

powyżej linii grzebieniastej, która dzieli go na dwie części - górną i dolną. Część górna jest wyłożona nabłonkiem walcowatym a część dolna nabłonkiem wielowarstwowym płaskim. Jest to też, z embriologicznego punktu widzenia, miejsce połączenia endodermy z ektoderma. Odbyt to otwór na końcu kanału odbytu. Znajduje się na dnie jamy miednicy i jest otoczony mięśniami przepony miednicy, w tym mięśniami dźwigaczami odbytu. Odbyt składa się z dwóch zwieraczy: wewnętrznego zwieracza odbytu, który jest zbudowany z mięśni gładkich i jest unerwiony autonomicznie, oraz zwieracza zewnętrznego odbytu, który jest zbudowany z mięśni poprzecznie prążkowanych. Zewnętrzny zwieracz odbytu otacza zwieracz wewnętrzny i znajduje się bliżej powierzchni skóry.^{51,52,62,63}

Unaczynienie oraz spływ chłonny

Fragmenty jelita grubego, rozwinięte z jelita środkowego w trakcie embriogenezy, otrzymują unaczynienie z tętnicy kręzkowej górnej (SMA – superior mesenteric artery). Pochodne jelita tylnego unaczynia tętnica kręzkowa dolna (IMA – inferior mesenteric artery). Kątnica wraz z końcowym odcinkiem jelita krętego, wyrostkiem robaczkowym i proksymalną wstępnicą zaopatrywane są przez tętnicę krętniczo-okrężniczą. Wstępnica i zgięcie wątrobowe zaopatruje głównie tętnica okrężnicza prawa. Proksymalna poprzecznicza otrzymuje unaczynienie poprzez tętnicę okrężniczą środkową. Zgodnie z podziałem na lewą i prawą połowę jelita grubego zmienia się również źródło unaczynienia – zgięcie śledzionowe i zstępnica zaopatrywane są poprzez tętnicę okrężniczą lewą, która jest już odgałęzieniem tętnicy kręzkowej dolnej. Krew do esicy doprowadza tętnica esicza. Odbytnica i odbyt zaopatrywane są w krew zarówno z tętnicy kręzkowej dolnej (tętnica odbytnicza górna) jak i odgałęzień tętnicy biodrowej wewnętrznej (tętnice odbytnicze środkowa i dolna). Komunikacja między tętnicą kręzkową górną i dolną odbywa się za pośrednictwem tętnicy brzeżnej Drummonda, która biegnie wzdłuż całej okrężnicy oraz łuku tętniczego Riolana łączącego tętnicę okrężniczą środkową i lewą. Obie formy anastomoz mają bardzo dużą zmienność osobniczą i mogą być nieobecne.⁵¹ Implikuje to występowanie obszarów o potencjalnie słabszym ukrwieniu, np. w przypadku pooperacyjnej hipotonii. Należy tutaj wymienić punkt Griffithsa w zgięciu śledzionowym i Sudecka w obrębie zgięcia esiczo-odbytniczego. J.D. Griffiths w 1956 r. podważył znaczenie kliniczne punktu Sudecka,

udowadniając istnienie dobrze rozwiniętego spłotu podśluzówkowego łączącego tętnice odbytnicze.⁶⁴

Spływ żylny odbywa się poprzez naczynia towarzyszące tętnicom i należy do krążenia wrotnego wątroby. Żyła krezkowa dolna uchodzi do żyły śledzionowej, która łączy się z żyłą krezkową górną tworząc wspólnie żyłę wrotną. Regionalne węzły zlokalizowane są wzdłuż głównych naczyń zaopatrujących okrężnicę i odbytnicę, wzdłuż arkad naczyniowych tętnicy brzeżnej oraz w sąsiedztwie okrężnicy i odbytnicy, czyli w tkankach mezokolon i mezorektum.⁶⁵ Spływ chłonny z części dolnej odbytu biegnie głównie do powierzchownych węzłów pachwinowych.

Unerwienie

Unerwienie jelita grubego jest złożone i odbywa się przez jelitowy i autonomiczny układ nerwowy. Jelitowy układ nerwowy jest unikalny dla układu pokarmowego i obejmuje podśluzówkowy splot Meissnera i mięśniowy splot Auerbacha. Sploty te są w stanie koordynować wiele funkcji jelita, w tym motorykę, wydzielanie śluzu i przepływ krwi w obrębie ścian jelita. Jelitowy układ nerwowy jest regulowany zarówno przez współczulny, jak i przywspółczulny układ nerwowy, a także przez hormony i inne cząsteczki sygnałowe.⁶⁶

Włókna współczulnego układu nerwowego pochodzą z odcinka piersiowego (T5-T12) i krzyżowego (S1-S2) rdzenia kręgowego. Tworzą odpowiednio górny i dolny splot krezkowy. Górny splot krezkowy oddaje większe i mniejsze nerwy trzewne do prawej połowy okrężnicy. Dolny splot unerwia współczulnie lewą połowę okrężnicy za pośrednictwem lędźwiowych i krzyżowych nerwów trzewnych. Podział unerwienia na strony odpowiada granicy pomiędzy środkowym i dolnym odcinkiem jelita pierwotnego. Pobudzenie współczulne powoduje spowolnienie perystaltyki oraz skurcz wewnętrznego zwieracza odbytu.⁵²

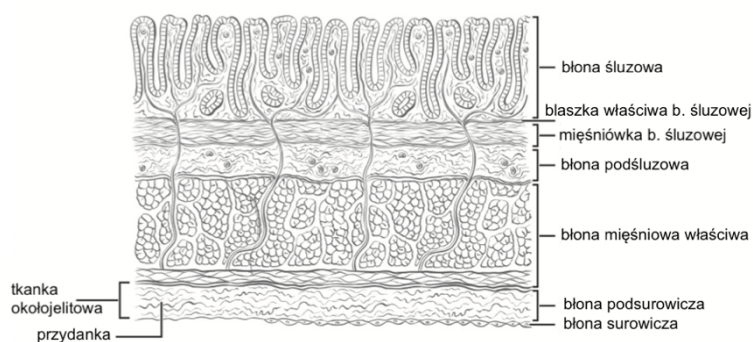
Włókna przywspółczulnego układu nerwowego pochodzą z pnia mózgu (nerw błędny) i krzyżowego rdzenia kręgowego. Nerw błędny oddaje włókna przywspółczulne dla prawej połowy okrężnicy do splotu krezkowego górnego. Nerwy z odcinka S2-S4 tworzą miedniczne nerwy trzewne, które zaopatrują dystalną okrężnicę i odbytnicę. Układ przywspółczulny odpowiada za pobudzenie perystaltyki i inicjowanie defekacji poprzez rozluźnienie wewnętrznego zwieracza odbytu.

Budowa ściany jelita

Błona śluzowa, podśluzowa, mięśniowa właściwa, przydanka lub błona surowicza to główne warstwy wyróżniane w obrębie ściany jelita grubego (Rycina 4). Części jelita grubego położone wewnątrztrzewnowo posiadają błonę surowiczą, podczas gdy te leżące zewnątrztrzewnowo mają przydankę. Błona śluzowa składa się z pojedynczej warstwy komórek nabłonkowych wyścielających wnętrze jelita. Śluzówka wytwarza zagłębienia zwane kryptami Lieberkühna. Nabłonek ulega ciągłemu procesowi złuszczenia się i odnowy. Populacja komórek nabłonkowych wywodzi się z jelitowych komórek macierzystych, które zasiedlają części podstawne krypt Lieberkühna. Różnicujące się komórki migrują z krypt w kierunku powierzchni. Naturalny proces dojrzewania i wymiany komórek jest dynamiczny i trwa od 4 do 8 dni.⁶⁷ Sprawia, że większość infekcji jelitowych i uszkodzeń nabłonka ulega szybkiej naprawie. Dzięki temu jelito może zachować funkcje barierowe, absorpcyjne i wydzielnicze. Wadą tego mechanizmu może być utrwalenie ewentualnych zmian na poziomie genetycznym i epigenetycznym w obrębie komórek macierzystych, które upośledzą homeostazę jelita i będą predysponować do chorób zapalnych lub nowotworów.

W śluzówce jelita grubego występuje znacznie więcej komórek kubkowych odpowiedzialnych za produkcję śluzu niż ma to miejsce w jelicie cienkim. Produkowany śluz tworzy dwie warstwy, które ograniczają bezpośredni kontakt enterocytów z antygenami pokarmowymi, bakteriami i innymi cząsteczkami, które mogą wywoływać odpowiedź immunologiczną. W obrębie błony śluzowej widoczna jest cienka, ale wyraźna blaszka mięśniowa błony śluzowej.

Błona podśluzowa ma największą wytrzymałość mechaniczną i pełni kluczową rolę w momencie wykonywania zespołów jelitowych. Błona mięśniowa właściwa stanowi grubszą,



Rycina 4 Warstwy prawidłowej ściany jelita grubego. Źródło: Weiser, M. R. (2018). AJCC 8th Edition: Colorectal Cancer. *Annals of Surgical Oncology*, 25(6), 1454–1455. <https://doi.org/10.1245/s10434-018-6462-1>

oddzielną i głębszą warstwą mięśni gładkich. Zewnętrznie od niej znajduje się warstwa tkanki łącznej okołojelitowej, którą alternatywnie można nazwać tkanką podsurowiczą - gdy fragment jelita jest pokryty jest otrzewną lub przydanką w odcinkach zewnątrzotrzewnowych.⁶⁸ Zgodnie z wytycznymi Amerykańskiego Wspólnego Komitetu do spraw Raka (AJCC American Joint Committee on Cancer) oraz Międzynarodowej Unii Walki z Rakiem (UICC - Union for International Cancer Control) ocena głębokości naciekania ściany jelita stanowi podstawę oceny cechy T w powszechnie wykorzystywanej klasyfikacji TNM(Tabela 6.).

Fizjologia

Jelito grube jest istotnym elementem układu pokarmowego, a jego główne funkcje obejmują wchłanianie wody i elektrolitów, magazynowanie i wydalanie kału, fermentację niestrawnych resztek pokarmowych oraz produkcję i wchłanianie niektórych witamin. Ruch treści jelitowej następuje dzięki rytmicznym skurczom mięśni ściany okrężnicy, które odpowiadają za mieszanie treści jelitowej i powolne transportowanie w kierunku odbytnicy. Woda i elektrolity ulegają stopniowej resorpcji co powoduje zagęszczenie przemieszczającej się treści jelitowej i ostatecznie utworzenie kału. W jelicie grubym dochodzi również do transportu (kierunek zależy od stężenia w surowicy i światła jelita oraz od sposobu transportu) jonów potasowych, sodowych, chlorkowych i wodorowęglanowych. Magazynowanie kału odbywa się w odbytnicy aż do momentu defekacji.⁵⁶ Stolec wywierając nacisk na ściany odbytnicy i odbytu stymuluje splot mięśniowy w celu zainicjowania perystaltyki oraz rozluźnienia wewnętrznego zwieracza odbytu. Odruch ten, zwany odruchem odbytniczozwieraczowym, stymuluje również zewnętrzny zwieracz odbytu do skurczu, co prowadzi do uczucia parcia na stolec. Jelito grube jest domem dla bilionów komensalnych bakterii, które pomagają rozkładać i fermentować niestrawne resztki pokarmowe – np. błonnik pokarmowy do krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, które są wykorzystywane jako źródło energii enterocytów. Ponadto fizjologiczna flora bakteryjna jelita grubego odpowiada za produkcję witamin – np. K i z grupy B, które następnie są wchłaniane.^{52,69} Zaburzenie fizjologii jelita grubego skutkuje zaparciami, biegunkami, chorobami zapalnymi i może zwiększać ryzyko zachorowania na RJG.

Wybrane zagadnienia z zakresu epidemiologii i etiologii raka jelita grubego.

Epidemiologia

Zachorowalność i umieralność

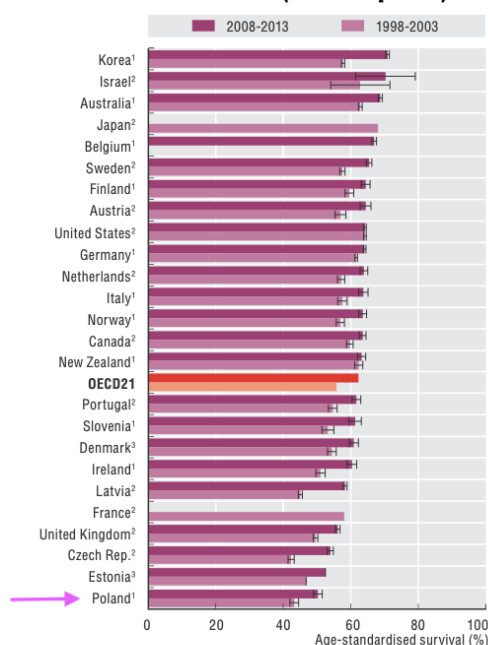
Rak jelita grubego jest trzecim najczęściej diagnozowanym nowotworem i drugą najczęstszą przyczyną zgonów z powodu raka na świecie. W 2020 roku na całym świecie odnotowano około 1,9 miliona nowych przypadków i 935 000 zgonów.² W Polsce w 2020 r., według danych publikowanych przez Krajowy Rejestr Nowotworów (KRN), zdiagnozowano łącznie 16091 nowych przypadków nowotworów złośliwych jelita grubego (ICD-10 C18-21), w tym 9010 wśród mężczyzn i 7081 wśród kobiet. Łącznie RJG stanowi 11 % wszystkich rozpoznawanych nowotworów złośliwych w Polsce. RJG w Polsce jest trzecim najczęściej rozpoznawanym nowotworem w populacji żeńskiej i męskiej. W strukturze zgonów na nowotwory złośliwe w 2020 r. w Polsce RJG był na trzecim miejscu wśród kobiet i drugim wśród mężczyzn. Standaryzowane do populacji światowej (Age Standardized World) współczynniki zachorowalności i umieralności wynosiły odpowiednio 15,6/100 tys. oraz 9,55/100 tys. wśród kobiet i 25,77/100 tys. oraz 18,89/100 tys. wśród mężczyzn. Niepokój budzi znaczna dynamika wzrostu zachorowalności wśród Polaków – od 1980 r. zanotowano ponad 3-krotny wzrost wśród kobiet i 5-krotny wśród mężczyzn.⁵¹ Zmniejsza się natomiast współczynnik umieralności, ze średnioroczną zmianą procentową o -1,7% w okresie 2010-2020.⁷⁰ Skumulowane ryzyko zachorowania na RJG w 2020 r. wynosiło 5,03%. Wykluczając z prezentacji przypadki raka kanału odbytu i odbytu (ICD-10 C21) w 2020 r. zanotowano 15816 nowych przypadków.⁷⁰ Oznacza to, że w 2020 r. w Polsce nowotwory okrężnicy i odbytnicy stanowiły 98,3 % nowo rozpoznanych nowotworów złośliwych jelita grubego.

Dane szacunkowe z Global Cancer Observatory (GLOBOCAN) znacznie odbiegają od tych prezentowanych przez KRN. GLOBOCAN w 2020 r. szacował w Polsce 25597 nowych przypadków (tj. 59% więcej niż KRN). Raportowana ilość zgonów pacjentów z powodu RJG w Polsce w 2020 r. wyniosła 12502 według KRN a szacunkowa liczba zgonów w 2020 r. wg. GLOBOCAN to 15088 (20,7% więcej).^{2,70} Przedstawione różnice mogą wynikać m.in. z metody szacunkowej GLOBOCAN, wpływu pandemii COVID-19 na rzeczywistą rozpoznawalność RJG w 2020 r. oraz nierzetelnego i niepełnego procesu zgłaszania przypadków do KRN.

Przeżycia

Wskaźniki przeżyć ulegały stopniowej poprawie na przestrzeni ostatnich 20 lat. W latach 2000-2005 standaryzowany wskaźnik 5-letniego przeżycia dla kobiet wynosił 48,5 % a dla mężczyzn 47,1%. Dekadę później wskaźniki urosły dla kobiet do 55,3% i 52,8% dla mężczyzn. (Tabela 2) Wartości te są poniżej średniej dla krajów rozwiniętych. Biorąc pod uwagę grupę OECD, Polska zajmuje niechlubne miejsce wśród krajów z najmniejszym wskaźnikiem 5-letnich przeżyć z powodu raka jelita grubego razem z Estonią i Czechami. Wskaźniki w Izraelu i Korei Południowej sięgają do 70%.⁷⁰⁻⁷² (Rycina 4).

8.31. Colorectal cancer, five-year relative survival, 1998-2003 and 2008-13 (or nearest periods)



1. Period analysis, 2. Cohort analysis. 95% confidence intervals represented by H.

Source: OECD Health Statistics 2015, <http://dx.doi.org/10.1787/health-data-en>.
StatLink <http://dx.doi.org/10.1787/888933281219>

Rycina 5. 5-letnie względne przeżycia pacjentów z RJG e latach 1998-2003 i 2008-2013 (lub najbliższych) w krajach OECD. Źródło zawarte na rycinie.

Tabela 2. Wskaźniki przeżyć 5-letnich w Polsce o okresach od 2000-2015

Kod ICD-10	Zakres lat	Płeć	Względne	Obserwowane	Standaryzowane
C18-C21	[2000.2005)	Mężczyźni	47.10	37.60	47.10
C18-C21	[2005.2010)	Mężczyźni	52.10	42.00	52.10
C18-C21	[2010.2015)	Mężczyźni	52.80	43.30	52.80
C18-C21	[2000.2005)	Kobiety	48.50	42.40	48.50
C18-C21	[2005.2010)	Kobiety	53.20	46.90	53.20
C18-C21	[2010.2015)	Kobiety	55.30	49.30	55.30

Etiologia

Rak jelita grubego ma bardzo złożoną etiologię obejmującą akumulację zmian genetycznych i epigenetycznych. Karcynogeneza w raku jelita grubego jest procesem wieloetapowym, który zaczyna się zazwyczaj od przekształcenia prawidłowych komórek nabłonka jelita w gruczolaka. Sekwencja gruczolak-rak jest najszerzej akceptowanym modelem karcynogenezy raka jelita grubego. Model ten sugeruje, że gruczolaki, które są łagodnymi nowotworami jelita grubego, mogą przekształcić się z czasem w nowotwory złośliwe. Okres potrzebny do takiej transformacji może wynosić od kilku do kilkunastu lub nawet kilkudziesięciu lat w zależności od typu występujących mutacji. Stwarza to okno czasowe obejmujące zmiany przedrakowe, idealne do stosowania profilaktyki wtórnej.⁷³ Transformacja nowotworowa napędzana jest losowymi lub sekwencyjnymi zmianami genetycznymi i zmianami w ekspresji genów, które zakłócają normalną regulację wzrostu i podziału komórek prowadząc do niestabilności genetycznej. Wyróżnia się trzy główne szlaki prowadzące do niestabilności genetycznej – niestabilność chromosomalną (CIN), mikrosatelitarną (MSI) i epigenetyczną (CIMP).⁵⁸ Najczęstszą postacią jest niestabilność chromosomalna, odpowiedzialna za ponad 80% przypadków RJG, objawia się pod postacią zmian strukturalnych i ilościowych w chromosomach.⁷⁴ Mutacje punktowe, które pojawiają się w ciągu życia jednostki dotyczą tylko pojedynczych komórek i wywodzących się z nich linii. Nowotwory bez uchwytnego czynnika o charakterze dziedzicznym, wywodzące się z mutacji punktowych, nazywane są rakami sporadycznymi i stanowią 70-80% wszystkich przypadków raka jelita grubego. Molekularna patogeneza raka sporadycznego jest heterogenna, ponieważ mutacje mogą dotyczyć różnych genów. W około 70% przypadków karcynogeneza związana jest z konkretną sekwencją mutacji, która skutkuje określoną prezentacją kliniczną, zaczynając od powstania gruczolaka, a kończąc na gruczolakoraku.^{72,75} Geny supresorowe (np. *APC*, *TP53*), stabilizujące (np. *MLH1*, *MSH2*) i onkogeny (np. *KRAS*, *BRAF*) to trzy grupy genów mających udział w karcynogenezie RJG w których zidentyfikowano konkretne mutacje.

Mutacje w genie *APC*, który koduje białko regulujące proliferację i różnicowanie komórek, występują we wczesnych stadiach nowotworu jelita grubego. Mutacje powodujące utratę funkcji *APC* prowadzą do gromadzenia się β -kateniny w cytoplazmie, która aktywuje szlaki sygnałowe promujące proliferację i przeżycie komórek. Mutacja germinalna w genie *APC* związana jest z polipowatością rodzinna z gruczolakowatością (FAP). Mutacje w onkogenach

KRAS i *BRAF*, które są elementami szlaku sygnałowego RAS/RAF/MAPK regulującego proliferację i różnicowanie komórek związane z rozwojem polipów ząbkowanych. Mutacje w genie TP53, który reguluje cykl komórkowy i naprawę DNA, są również często obserwowane w raku jelita grubego. Oprócz mutacji genetycznych występują również zmiany epigenetyczne, takie jak metylacje DNA i modyfikacje histonów. Odgrywają one kluczową rolę w karcynogenezie raka jelita grubego. Jedną z ważnych zmian epigenetycznych w raku jelita grubego jest hipermetylacja wysp CpG w regionach promotorowych genów supresorowych prowadząca do ich wyciszenia. Niestabilność mikrosatelitarna jest wynikiem defektów w systemie naprawy błędnie sparowanych zasad (MMR – mismatch repair), prowadzących do kumulowania się mutacji w regionach mikrosatelitarnych. Mutacje germinalne w obrębie systemu MMR odpowiedzialne są za występowanie dziedzicznego raka jelita grubego bez polipowatości (HNPCC).⁷⁶

Utrata lub „regulacja w dół” komórkowych cząsteczek adhezyjnych (CAM), takich jak kadheryna i , jest również często obserwowana w rozwoju raka jelita grubego. Deregulacja CAM prowadzi do upośledzenia połączeń międzykomórkowych i zaburzenia architektury tkankowej co sprzyja inwazyjności guza i przerzutowaniu.

Tabela 3 Wybrane różnice pomiędzy RJG prawej i lewej połowy jelita grubego.

	Rak prawej połowy jelita grubego	Rak lewej połowy jelita grubego
Różnice molekularne	Tendencja do wykazywania wyższych wskaźników niestabilności mikrosatelitarnej (MSI-H), mutacji BRAF oraz metylacji CpG (CIMP). Bardziej skłonne do mutacji w genach zaangażowanych w szlak sygnalizacji WNT.	Tendencja do wykazywania wyższych wskaźników mutacji KRAS, a także mutacji w genach zaangażowanych w szlak sygnalizacji PI3K.
Częstość występowania	Ok. 40% przypadków RJG	Ok. 60% przypadków RJG
Najczęstsza lokalizacja	Kątnica	Esica, odbytnica
Różnice w występowaniu między płciami	Nieznacznie częstszy u kobiet	Nieznacznie częstszy u mężczyzn
Wiek wystąpienia	Statystycznie starsza populacja	Statystycznie młodsza populacja

Niemodyfikowalne czynniki ryzyka

Rozwój raka jelita grubego jest związany z czynnikami ryzyka, które można podzielić na niemodyfikowane (endogenne) i modyfikowalne (egzogenne). Do czynników niemodyfikowalnych zalicza się wszystkie czynniki niezależne od pacjenta takie jak wiek, płeć, wywiad rodzinny (Tabela 4).⁷² To właśnie wiek jest największym endogennym czynnikiem ryzyka. Ponad 90% przypadków raka jelita grubego występuje u osób w wieku powyżej 50 lat i rzadko obserwuje się go u osób przed 40 r. ż. Zapadalność na RJG jest ponad 50 razy wyższa u osób w wieku 60-79 lat niż u osób poniżej 40 r. ż. Wśród mężczyzn rak jelita grubego jest statystycznie diagnozowany w młodszym wieku niż wśród kobiet (68 vs. 72 lata).⁵⁸ Płeć męska jest również niezależnym czynnikiem ryzyka RJG. Rasa czarna ma większe ryzyko rozwoju RJG w porównaniu z rasą kaukaską. Choroby zapalne jelit – wrzodziejące zapalenie jelita grubego i choroba Leśniowskiego-Crohna predysponują do wystąpienia raka jelita grubego. Około 1% RJG rozwija się na ich podłożu i jest to związane z przewlekłym stanem zapalnym. Ciągłe procesy uszkodzenia i naprawy błony śluzowej jelita zwiększają szansę wystąpienia i akumulację karcynogennych mutacji.⁷⁴ Wywiad rodzinny w kierunku występowania RJG stanowi ważny czynnik ryzyka i istotną praktykę kliniczną. Rodzinne zachorowania zwiększają ryzyko ponad to populacyjne w zależności od stopnia pokrewieństwa i ilości przypadków RJG. Dla przykładu wystąpienie RJG u krewnego I stopnia zwiększa ryzyko zachorowania do 6% podczas gdy historia zachorowania dwóch krewnych I stopnia zwiększa ryzyko zachorowania do 17%.

W literaturze można również znaleźć dane wskazujące, że dodatni wywiad rodzinnych w kierunku RJG wśród krewnego I stopnia zwiększa względne ryzyko zachorowania przynajmniej dwukrotnie.⁵⁸ Dobrze poznane, dziedziczne zespoły uwarunkowane genetycznie, cechujące się dużą penetracją, odpowiadają za mniej niż 5 % przypadków nowotworów złośliwych jelita grubego.⁷⁷ Dziedziczny w sposób autosomalny recesywny zespół Lyncha (HNPCC) jest najczęstszą dziedziczną przyczyną RJG. Zespół Lyncha jest spowodowany mutacjami germinalnymi w systemie MMR (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6* lub *PMS2*, *PMS2*). W przypadku nosicieli HNPCC, skumulowane ryzyko zachorowania na raka jelita grubego szacuje się na ponad 60%. Dokładny wywiad wskazuje na wielopokoleniowe występowanie RJG, często o wczesnym początku (tj. ok. 45 roku życia). FAP związana jest z mutacją w obrębie genu *APC*, dziedziczona jest w sposób autosomalny dominujący i osiąga niemal pełną penetrację.

Szansa na rozwój RJG na podłożu setek występujących polipów jelita jest 100% - rozpoznanie FAP stanowi wskazanie do elektywnej proktokolektomii.^{51,72} Polipowatość gruczołakowata (mutacja w genie *MUTYH*, dziedziczona autosomalnie recesywnie) objawia się występowaniem licznych (<100) polipów gruczołowych w jelicie grubym, które wymagają endoskopowego usunięcia.⁷⁸

Ryzyko względne wystąpienia RJG jest większe u pacjentów chorujących na cukrzycę (ok. 1,3). Jednym z potencjalnych mechanizmów odpowiedzialnych za zwiększone ryzyko RJG jest występowanie hiperinsulinemii. Insulina stymuluje ekspresję receptorów insulinowych i zmniejsza ilość białek osocza wiążących insulinopodobne czynniki wzrostu (IGF) co przyczynia się do zwiększenia ich wolnej puli. Ostatecznie dochodzi do przyspieszania cyklu komórkowego i zahamowania apoptozy. Cukrzyca, w zależności od postaci klinicznej, może być zaliczana zarówno do niemodyfikowalnych jak i modyfikowalnych czynników ryzyka RJG.

Modyfikowalne czynniki ryzyka

Czynniki, które jednostka może zmienić lub kontrolować poprzez zmianę stylu życia lub interwencje medyczne nazywamy egzogennymi (modyfikowalnymi). (Tabela 4) Dieta bogata w czerwone i przetworzone mięso oraz uboga w błonnik, owoce i warzywa została powiązana ze zwiększonym ryzykiem raka jelita grubego. WHO w 2015 r. zaklasyfikowała czerwone mięso jako substancję prawdopodobnie rakotwórczą a mięso przetworzone jako substancję rakotwórczą dla człowieka.⁷⁹ Badania nie wykazały podobnego ryzyka dla mięsa białego takiego jak ryby i drób. Brak aktywności fizycznej również wiąże się ze zwiększonym ryzykiem RJG. Regularne ćwiczenia mogą pomóc zmniejszyć ryzyko raka jelita grubego, a także innych nowotworów. Mechanizm związany z aktywnością fizyczną i jej wpływem na ryzyko wystąpienia nowotworów jest złożony i może m.in. dotyczyć regulacji stężenia insuliny i hormonów płciowych. Ćwiczenia fizyczne zmniejszają insulinooporność i przyczyniają się do redukcji stężenia estrogenów. Dodatkowo regularnie wykonywane ćwiczenia sprzyjają utrzymaniu prawidłowego BMI.⁸⁰ Zapadalność na RJG u osób z nadwagą i otyłością jest większa niż u osób z prawidłowym BMI. Ryzyko zależy od ilości nadmiarowych kilogramów i czasu trwania otyłości – metaanalizy wskazują, że 5kg powyżej należnej masy ciała wiąże się z 3% wzrostem ryzyka RJG. Największe ryzyko dotyczy osób u których nadwaga i otyłość wystąpiły już we wczesnej dorosłości i wieku średnim.^{58,79} Palenie wyrobów tytoniowych jest

dobrze znanym czynnikiem ryzyka wielu nowotworów, w tym raka jelita grubego.⁷⁹ Dobrze udokumentowane jest także zwiększenie ryzyka RJG u osób spożywających alkohol. Badania kohortowe wskazują, że osoby spożywające duże ilości alkoholu mogą mieć nawet 2 razy większe ryzyko zachorowania na raka odbytnicy w porównaniu z osobami nie spożywającymi alkoholu.⁸¹ Trudno jest jednoznacznie ocenić indywidualny wpływ modyfikowalnych czynników ryzyka na wystąpienie RJG, ponieważ wiele z nich jest ze sobą powiązanych tak jak aktywność fizyczna, zbilansowana dieta i prawidłowa masa ciała. Wykształcenie i status ekonomiczny jednostki mają również wpływ na zachorowalność na RJG. Osoby o podstawowym wykształceniu i będące w gorszej sytuacji finansowej mają nawet 30% większe ryzyko zachorowania w porównaniu z osobami o wyższym wykształceniu i dobrej sytuacji materialnej.^{79,82} Wszystkie modyfikowalne czynniki ryzyka powinny stać się celem profilaktyki pierwotnej a część z nich ma również znaczenie w kontekście profilaktyki trzeciorzędowej – np. wpływ aktywności fizycznej i palenia wyrobów tytoniowych na występowanie powikłań pooperacyjnych i ogólnej długości przeżycia u pacjentów leczonych z powodu RJG.⁵⁸

Tabela 4 Czynniki ryzyka związane z wystąpieniem raka jelita grubego.

Endogenne czynniki ryzyka (niemodyfikowalne)	Egzogenne czynniki ryzyka (modyfikowalne)
Wiek (ryzyko wzrasta wraz z wiekiem)	Dieta (duże spożycie czerwonego mięsa i przetworzonego mięsa, niskie spożycie owoców, warzyw i selenu)
Płeć męska	Brak aktywności fizycznej
Osobista historia polipów jelita grubego lub raka	Otyłość
Rodzinna historia raka jelita grubego	Palenie papierosów
Dziedziczne mutacje genetyczne (np. zespół Lyncha, rodzinna polipowatość jelita grubego)	Wysokie spożycie alkoholu
Choroba zapalna jelita (np. wrzodziejące zapalenie jelita grubego, choroba Leśniowskiego- Crohna)	Status socjoekonomiczny
Cukrzyca typu 2	Ekspozycja na niektóre substancje chemiczne (np. azbest, benzen)
Rasa czarna	Przewlekłe zakażenia (np. <i>Helicobacter pylori</i>)

Wybrane zagadnienia z zakresu badań przesiewowych, diagnostyki i leczenia raka jelita grubego.

Badania przesiewowe

Celem badań przesiewowych jest wykrycie zmiany przedrakowej lub raka w grupie osób bezobjawowych. Wczesne rozpoznanie polipów i RJG daje największe szanse na pełne wyleczenie. Na przestrzeni ostatnich 25 lat potwierdzono w licznych badaniach skuteczność populacyjnych badań przesiewowych RJG w zmniejszeniu śmiertelności.⁸³⁻⁸⁵ Istnieje kilka metod badań przesiewowych RJG, które można podzielić na inwazyjne i nieinwazyjne. (Tabela 5.)

Endoskopia

Złotym standardem i punktem odniesienia dla pozostałych metod screeningowych jest kolonoskopia. Polega na oglądaniu całej śluzówki jelita grubego za pomocą endoskopowej kamery. Jelito grube podczas badania zostaje wypełnione gazem (najczęściej powietrzem) lub wodą – pozwala to na odpowiednie napięcie ścian w celu dokładnej oceny wzrokowej oraz ułatwia poruszanie się krętym przebiegu jelita. W przypadku identyfikacji zmiany podejrzanej (polip, guz), endoskopista jest w stanie usunąć ją lub pobrać fragment tkanki do badania za pomocą specjalnych narzędzi endoskopowych. Dzięki temu kolonoskopia jest metodą zarówno diagnostyczną jak i potencjalnie leczniczą. Dokładna ocena jelita grubego wymaga jego przygotowania. Pacjent przed kolonoskopią powinien zażywać zaleczone osmotycznie czynne środki przeczyszczające, wypić odpowiednią ilość płynów i pozostawać na czczo. Sama kolonoskopia może być dla pacjenta bardzo bolesna i wywoływać silny strach. Część osób wymaga sedacji w trakcie procedury. Wymienione powyżej czynniki, razem z kosztami specjalistycznego personelu medycznego oraz drogiej aparatury, sprawiają, że kolonoskopia jest relatywnie drogim badaniem przesiewowym.^{72,86} Dodatkowo występują społeczne opory ze względu na potencjalne dolegliwości bólowe i dyskomfort związany chociażby z samym przygotowaniem pacjenta do kolonoskopii. Na całym świecie istnieje problem dotyczący zgłaszalności osób kwalifikujących się do przesiewowej kolonoskopii. Ze względu na inwazyjny charakter, kolonoskopia niesie za sobą także ryzyko powikłań. Wśród nich najbardziej

poważnymi są przedziurawienie ściany jelita i krwawienie jednak ich łączna częstość nie przekracza 1% w kolonoskopiach zabiegowych.⁸⁶ Badania obserwacyjne i meta analizy wskazują, że kolonoskopia przesiewowa zmniejsza ryzyko zgonu z powodu RJG nawet o 68-88%.^{5,87} W ramach Programu Badań Przesiewowych (PBP) - oportunistycznego w latach 2000-2021 i równocześnie populacyjnego w latach 2012-2021 - wykonano 1044232 kolonoskopie w wielu ośrodkach w Polsce. Od 2022 r. wznowiono program przesiewowych kolonoskopii finansowanych z budżetu państwa.⁸⁴ Wiek rozpoczęcia badań przesiewowych zależy od regionalnych wytycznych oraz wywiadu rodzinnego. W Polsce w ramach PBP wykonuje się kolonoskopię w przedziale między 50 a 65 rokiem życia u pacjentów bez istotnego rodzinnego wywiadu nowotworowego lub między 40 a 49 rokiem życia, jeżeli rozpoznano RJG u przynajmniej 1 krewnego I stopnia (pacjenci wysokiego ryzyka). Sugerowany interwał pomiędzy badaniami „negatywnymi” to 10 lat dla grupy pacjentów standardowego ryzyka. W przypadku wykonywania przesiewowej, elastycznej sigmoidoskopii zalecane jest powtórzenie badania co 5 lat oraz połączenie go z corocznym badaniem na krew utajoną w kale celem zminimalizowania szansy na przeoczenie zmiany w prawej połowie jelita grubego.⁸⁸

Kolonografia CT

Nieinwazyjną alternatywą w obrazowaniu jelita grubego jest tzw. „wirtualna kolonoskopia” czyli kolonografia w tomografii komputerowej (Tabela 5.). W tym przypadku również wymagane jest „przygotowania” jelita oraz podania przezodbytniczo gazu w celu lepszej wizualizacji całej ściany jelita grubego. Badanie cechuje się czułością bliską 96% w rozpoznaniu RJG. „Wirtualna kolonoskopia” wykazuje natomiast znacznie niższą czułość w przypadkach niewielkich i płaskich polipów (6-9mm).⁷⁶ Wydaje się być odpowiednią metodą u pacjentów po niepełnej kolonoskopii (np. przy ocenie występowania zmian synchronicznych w przypadkach guzów nieprzepuszczających endoskopu) lub jako alternatywa dla osób nie akceptujących kolonoskopii jako metody przesiewowej. Kolonografia w tomografii komputerowej nie została objęta konkretnymi zaleceniami w wytycznych ESMO i ESSO. Wytyczne amerykańskie wskazują na 5 letni interwał pomiędzy badaniami w przypadku „czystych wirtualnych kolonoskopii”.⁷²

Badania kału

Do badań przesiewowych mogą być również wykorzystywane testy bazujące na wykrywaniu krwi lub specyficznych fragmentów DNA w próbce kału. Pomimo konieczności stosowania krótszych interwałów (nawet co rok) testowanie próbek kału cechuje się większą społeczną akceptacją. Gwajakowy test na krew utajoną w kale (gFOBT – guaiac fecal occult blood test) jest metodą chemiczną umożliwiającą wykrycie niewielkich ilości krwi (dokładnie hemu) w stolcu. Czułość i swoistość gFOBT jest ograniczona a redukcja śmiertelności na RJG w badaniach populacyjnych sięga od 8 do 16%.⁸⁷ Podstawą badania jest reakcja chemiczna (utlenianie) więc prawidłowe wykonanie od uczestnika unikania przed testem np. czerwonego mięsa (mioglobina daje wyniki fałszywie dodatnie) i przeciwutleniaczy takich jak wit. C (wyniki fałszywie ujemne). Dodatni wynik testu na krew utajoną w stolcu jest wskazaniem do wykonania kolonoskopii. Czulszymi i bardziej swoistymi następcami testu gwajakowego są immunochemiczne testy kału (FIT – fecal immunochemical tests), które dodatkowo nie wymagają ograniczeń dietetycznych od uczestników a wyniki nie są zależne od przyjmowanych przez nich leków. Redukcja śmiertelności na RJG wśród populacji poddanej przesiewowym badaniom FIT sięga 36%.⁸⁷ Odmiany ilościowe FIT (qFIT) pozwalają na odróżnienie krwawienia z przyczyn nowotworowych od nienowotworowych poprzez porównanie stężenia hemoglobiny w próbce kału.⁸⁹ Testy immunochemiczne na krew utajoną wyparły gwajakowe z wytycznych i programów przesiewowych na świecie.

Dostępne na rynku są także testy wykrywające fragmenty DNA w kale – FIT sDNA i mt-sDNA (multi target stool DNA). Wybrane mutacje (np. *APC*, *KRAS*) lub metylowane fragmenty DNA (np. *NDRG4*, *BMP3*) wykrywane są w próbce kału za pomocą metod immunochemicznych. Czułość i swoistość testów w wykrywaniu RJG, w przypadku testów wielogenowych wynosi odpowiednio powyżej 50% i 90% co potwierdza ich przydatność jako testów przesiewowych. Czułość i swoistość w wykrywaniu zaawansowanych gruczolaków jest niższa.⁹⁰

Według wytycznych Europejskiego Towarzystwa Onkologii Medycznej (ESMO) optymalny przedział wiekowy do wykonywania przesiewowych badań w kierunku RJG to 50-74 lata.⁸⁸ Ze względu na wzrost zachorowalności na RJG wśród młodszych pacjentów, wytyczne amerykańskie od 2018 roku obniżyły dolną granicę wieku do 45 roku życia. Oprócz

szybszej inicjacji programu przesiewowego amerykańskie nie priorytetyzują kolonoskopii nad pozostałymi zalecanymi metodami przesiewowymi.^{5,91}

Polityka badań przesiewowych opartych na szerszej ofercie dostępnych testów i dowolności z ich korzystania we współpracy z lekarzem, zdaje się mieć największe szanse na zachęcenie badanej populacji do większej partycypacji.

Tabela 5. Metody przesiewowe RIG.

Metoda	Inwazyjność	Częstotliwość	Przygotowanie	Zalety	Wady
Kolonoskopia	Inwazyjna	Od 50 r.ż. Co 10 lat w przypadku „czystej” kolonoskopii ESMO/ESSO	Przygotowanie jelita i sedacja	Najskuteczniejsza w wykrywaniu polipów i raka, możliwość usuwania polipów podczas zabiegu	Przygotowanie jelita. Ew. sedacja. Ryzyko powikłań.
Sigmoidoskopia	Inwazyjna	Co 5 lat	Przygotowanie lewego odcinka jelita (mniej uciążliwe)	Wykrywa polipy i raka dyst. 1/3 jelita grubego. Brak lub lekka sedacja	Ograniczona do dyst. 1/3 jelita grubego. Przygotowanie jelita.
Tomografia komputerowa jelita grubego „wirtualna kolonoskopia”	Nieinwazyjna	Co 5 lat	Przygotowanie jelita	Brak sedacji lub wprowadzania narzędzi, wykrywa polipy i raka w całym jelicie	Przygotowania jelita. Ekspozycja na promieniowanie jonizujące.
Testy na krew utajoną w kale (FOBT)	Nieinwazyjna	Co 1-2 lata	Konieczność wykluczenia pewnych produktów z diety przed badaniem.	Łatwe w użyciu, nie wymaga przygotowania jelita ani sedacji, tanie, akceptowalne społecznie	Mniej czułe i swoiste niż kolonoskopia. Kolonoskopia w przypadku wyniku dodatniego.
Testy DNA w kale FIT - DNA mt-sDNA	Nieinwazyjna	Co 1-3 lata	Brak przygotowania	Łatwe w użyciu, nie wymaga przygotowania jelita ani sedacji, tanie, akceptowalne społecznie	Mniej czułe. Kosztowne. Wymagają kolonoskopii w przypadku wyniku dodatniego

Naukowcy na całym świecie poszukują nowych biomarkerów, które mogłyby przynieść postęp zakresie nieinwazyjnych lub minimalnie inwazyjnych testów przesiewowych RJG. Wśród testowanych cząsteczek należy wymienić kinazę pirogronianową M2, krążące DNA nowotworowe, krążące mikro-RNA oraz cytokeratyny.⁹⁰

Diagnostyka raka jelita grubego.

Rak jelita grubego nie ma objawów, które byłyby specyficzne tylko dla tej jednostki chorobowej. Może rozwijać się zupełnie bezobjawowo a pierwsze symptomy mogą być również wynikiem rozsianego procesu nowotworowego. W literaturze pośród częściej wymienianych objawów występują:

- Jawne lub utajone krwawienie z dolnego odcinka przewodu pokarmowego
- Osłabienie
- Niedobór żelaza
- Niedokrwistość
- Utrata masy ciała i brak łaknienia
- Bóle i wzdęcia brzucha
- Zmiana rytmu i charakteru wypróżnień
- Wyczuwalny guz w badaniu palpacyjnym jamy brzusznej
- Niedrożność przewodu pokarmowego

Symptomatologia RJG zależy też od lokalizacji guza. Nowotwory prawej połowy jelita grubego częściej związane są z niedokrwistością, która często bywa pierwszym stwierdzonym odchyleniem od normy. Guzy prawej połowy rzadziej dają objawy niedrożnościowe (z wyjątkiem guzów kątnicy naciekających na zastawkę Bauhina). Rak lewej połowy jelita grubego częściej dają obraz klinicznego krwawienia z przewodu pokarmowego, zmiany charakteru wypróżnień (np. stolce ołówkowate) objawy zwężenia lub niedrożności przewodu pokarmowego. Wymienione przykłady wiążą się często z zaawansowanym miejscowo lub rozsianym RJG.^{51,72,91}

W przypadku dodatniego wyniku badania przesiewowego lub objawów wskazujących na RJG wymagane jest rozszerzenie postępowania diagnostycznego. Badaniem z wyboru jest kolonoskopia podczas której można potwierdzić i oznaczyć dokładną lokalizację podejrzaną

zmiany i pobrać materiał do badania histopatologicznego.⁸⁸ Pełna kolonoskopia daje także możliwość diagnostyki ewentualnych guzów synchronicznych (do 3% przypadków RJG).⁷²

Poza reprezentatywnym materiałem tkankowym pozwalającym postawić rozpoznanie RJG, pacjent wymaga badań dodatkowych w procesie przygotowania do optymalnego leczenia (tzw. diagnostic work-up). Ustalenie zaawansowania choroby (cTNM) wykonywane jest na podstawie badań obrazowych: najczęściej tomografii komputerowej i rezonansu magnetycznego (głównie wykorzystywany w raku odbytnicy i odbytu). Sugerowane są badania jamy brzusznej i miednicy z kontrastem oraz badanie klatki piersiowej (w praktyce klinicznej często wybierany jest RTG klatki piersiowej). W każdym przypadku zalecane jest przedoperacyjne oznaczenie antygenu rakowo-płodowego (CEA), którego wysokie stężenie (>20 ng/ml) może implikować występowanie niewidocznych w badaniach obrazowych przerzutów oraz pełni funkcję rokowniczą już na etapie diagnostycznym RJG.^{72,76,88,91}

Przed podjęciem leczenia RJG konieczna jest również ocena stanu ogólnego pacjenta i optymalizacja leczenia schorzeń towarzyszących. Badania wydolności krążenia, czynności nerek, wątroby, układu krzepnięcia krwi, gospodarki węglowodanowej i stanu odżywienia, dają pogląd na stan ogólny pacjenta i wskazują osoby wymagające bezwzględnej prehabilitacji przed planowym leczeniem operacyjnym.⁹¹

Leczenie raka jelita grubego

Leczenie raka jelita grubego jest złożonym i wysokospecjalistycznym procesem, którego szczegółowe omówienie znacznie wykracza poza ramy niniejszej rozprawy. Poniżej zostaną przedstawione podstawowe założenia i wybrane zagadnienia dotyczące leczenia raka jelita grubego zgodnie z obowiązującymi wytycznymi.

Rak okrężnicy

Chirurgia jest podstawową metodą leczenia raka jelita grubego. Celem operacji jest usunięcie guza i otaczających tkanek w celu uzyskania całkowitej resekcji z ujemnymi marginesami chirurgicznymi (minimum 5 cm zdrowych tkanek -proksymalnie i dystalnie).

Zakres operacji zależy od lokalizacji i stopnia zaawansowania guza. W przypadku guzów okrężnicy, standardem postępowania jest hemikolektomia lub kolektomia. Zakres resekcji jest dyktowany położeniem guza oraz obszarami ukrwienia jelita, które należy usunąć w celu

zachowania radykalności. Guzy prawej połowy okrężnicy wymagają zazwyczaj hemikolektomii prawostronnej a guzy położone po lewej stronie okrężnicy wymagają hemikolektomii lewostronnej. W rzadszych przypadkach, z powodu guza leżącego bardziej centralnie, w zakresie poprzecznicy, sytuacja kliniczna wymagać będzie resekcji poprzecznicy. W przypadkach guzów esicy zakres zabiegu jest zależny od lokalizacją zmiany nowotworowej. W przypadku długiej pętli esicy i sprzyjającej lokalizacji guza, można ograniczyć się do wycięcia tylko fragmentu jelita z marginesem zdrowych tkanek. Nierzadko raki esicy, ze względu na proksymalne lub dystalne umiejscowienie, wymagają poszerzenia zabiegu do lewostronnej hemikolektomii lub przedniej resekcji odbytnicy w celu zachowania marginesu chirurgicznego i właściwego ukrwienia pozostawianego narządu.⁷²

Przy resekowaniu jelita z guzem pamiętać należy o odpowiednim wycięciu przylegającej krezki z węzłami chłonnymi i naczyniami. Popularność zyskuje koncepcja całkowitego wycięcia krezki okrężnicy (Complete mesocolic excision, CME). Przerzuty do niższych pięter węzłów (D3) chłonnych mogą występować bez zajęcia węzłów pośrednich (D2), stąd też występuje grupa pacjentów, która zyskuje na radykalności zabiegu dzięki takiemu postępowaniu.⁹² CME jest przedmiotem trwających randomizowanych badań

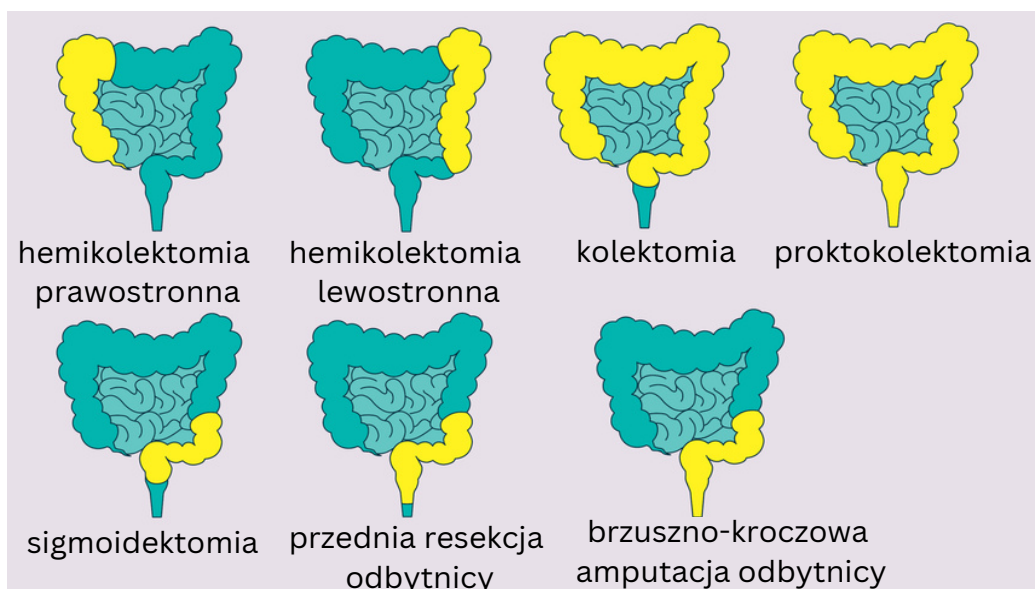
W przypadku uogólnionej choroby nowotworowej, postępowanie operacyjne często jest nakierowane na leczenie objawowe. W przypadku stwierdzenia przerzutów odległych leczenie zabiegowe jest leczeniem paliatywnym. W miarę możliwości technicznych, umiejętności operatora i stanu ogólnego pacjenta, możliwe jest usunięcie guza pierwotnego i widocznych zmian przerzutowych.⁹³ W przypadku niedrożności przewodu pokarmowego spowodowanej rozsianym procesem nowotworowym, zabieg często ogranicza się do wyłonienia stomii proksymalnie od guza zwężającego światło.

W przypadku raka okrężnicy chemioterapia neoadjuwantowa nie jest rutynowo zalecana. Terapia adjuwantowa to podawanie chemioterapii lub radioterapii po operacji. Celem terapii adjuwantowej jest zmniejszenie ryzyka nawrotu choroby i poprawa wyników leczenia chorych. Konkretnie stosowane schematy chemioterapii mogą się różnić w zależności od indywidualnego pacjenta i charakterystyki guza.

Chemioterapia adjuwantowa w raku okrężnicy jest zalecana po operacji u pacjentów w III stopniu zaawansowania i w stopniu II, w przypadku wykrycia czynników zwiększających ryzyko nawrotu choroby. Cechy wysokiego ryzyka w raku okrężnicy w stadium II obejmują zaawansowany miejscowo guz (pT4b), niedrożność jelit jako przyczyna zabiegu operacyjnego,

przedziurawienie ściany guza, niereprezentatywna próbka węzłowa (<12 węzłów w preparacie), wysoka złośliwość histologiczna (minimum G3), obecna inwazja naczyń i nerwowa oraz tumor budding (TB). Przed podjęciem decyzji o włączeniu leczenia uzupełniającego wymagana jest skrupulatna analiza potencjalnych zagrożeń i korzyści dla pacjenta z zastosowania rozważanej chemioterapii.

Stosowane schematy chemioterapii mogą się różnić w zależności od ośrodka, pacjenta i charakterystyki guza. Czas trwania chemioterapii adjuwantowej może być różny, ale zazwyczaj zaleca się od 3 do 6 miesięcy. U pacjentów z rakiem okrężnicy w stadium III jako podstawowy schemat stosuje się chemioterapię uzupełniającą z zastosowaniem 5-fluorouracylu i oksaliplatyny (FOLFOX) lub kapecytabiny i oksaliplatyny (CAPOX).



Rycina 6. Schematycznie przedstawione typowe zakresy resekcji jelita grubego. Na podstawie ryciny z <https://bowelcancerorguk.s3.amazonaws.com/Health%20information%20graphics/All-together.jpg>

Rak odbytnicy

Rak odbytnicy stanowi najczęstszą lokalizację sporadycznych guzów jelita grubego (do 28% wszystkich przypadków RJG).⁷² Leczenie operacyjne pozostaje najbardziej istotnym elementem kompleksowego zaopatrywania raka odbytnicy. Chorzy z zaawansowanym lokalnie guzem odbytnicy wymagać mogą leczenia neoadjuwantowego, którego celem jest zmniejszenie wielkości guza, zwiększenie prawdopodobieństwa uzyskania całkowitej resekcji oraz poprawa rokowań chorego. Decyzja o zastosowaniu leczenia neoadjuwantowego zależy od różnych czynników, takich jak stopień zaawansowania miejscowego (T3 i T4 lub każde T w

przypadku podejrzenia zajęcia węzłów – N1-2), lokalizacja guza (położenie względem załamka otrzewnej) oraz choroby współistniejące pacjenta. Standardową terapią neoadjuwantową jest trwająca 5 tygodni radioterapia (50-50,4 Gy we frakcjach po 1,8-2,0 Gy) z jednoczesną chemioterapią (5-fluorouracyl, kapecytabina lub doustny tegafur-uracyl) traktowane jako całościowe leczenie neoadjuwantowe. Inne stosowane schematy to:

- 5 X 5 Gy („krótka radioterapia”) z zabiegiem w ciągu tygodnia od zakończenia radioterapii
- 5 x 5 Gy z odroczonym zabiegiem o 4 do 8 tygodni
- 5 x 5 Gy w połączeniu z 3 cyklami chemioterapii wg. Schematu DeGramonta lub FOLFOX4⁹⁴

W przypadku guzów odbytnicy standardem postępowania operacyjnego jest całkowite wycięcie mezorektum (TME). TME polega na usunięciu odbytnicy i mezorektum wraz z jej strukturami limfatycznymi i naczyniowymi. Zalecane jest również podwiązanie tętnicy kręzkowej dolnej zaraz przy odejściu od aorty (tzw. wysokie podwiązanie). Wśród najczęściej wykonywanych zabiegów operacyjnych z powodu guzów nowotworowych odbytnicy wymienić należy:

- Brzuschno-kroczową amputację odbytnicy (zabieg Milesa) oraz brzuschno-krzyżową amputację odbytnicy z TME,
- Przednia resekcja odbytnicy z subtotalnym lub częściowym TME,
- Przezwwieraczowe całkowite wycięcie mezorektum (TaTME),
- Zabiegi miejscowego wycięcia raka odbytnicy (TEM, TAMIS),

Chemioterapia i radioterapia uzupełniająca nie jest rutynowo zalecana u pacjentów z rakiem odbytnicy w stadium II lub III, którzy przeszli leczenie neoadjuwantowe.

Badanie histopatologiczne guza dopełnia proces oceny stopnia zaawansowania. Cechy patologiczne, takie jak inwazja naczyń limfatycznych i inwazja okołonercowa mogą również pomóc w identyfikacji pacjentów z wysokim ryzykiem nawrotu. Z wszystkimi niezbędnymi danymi klinicznymi można zakończyć proces oceny zaawansowania RJG wg. UICC/AJCC na podstawie klasyfikacji TNM. (Tabela 6.)

W wybranych przypadkach mogą być konieczne dodatkowe badania w celu podjęcia decyzji dotyczących leczenia. Testy markerów molekularnych, takich jak KRAS, NRAS, BRAF i status MSI, mogą pomóc zidentyfikować pacjentów, którzy mogą odnieść korzyści z terapii

celowanych lub immunoterapii. Na przykład, pacjenci z mutacjami KRAS lub NRAS nie są kandydatami do terapii anty-EGFR, podczas gdy pacjenci z nowotworami o wysokim MSI mogą odnieść korzyść z inhibitorów immunologicznego punktu kontrolnego (checkpoint inhibitors)

Tabela 6. Stopień zaawansowania RJG na podstawie TNM UICC/AJCC 8. edycja

Stopień zaawansowania	Guz	Węzły	Przerzuty
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
IIA	T2	N0	M0
IIB	T3	N0	M0
IIC	T4a	N0	M0
IIIA	T1-T2	N1a	M0
IIIB	T3-T4a	N1a	M0
IIIC	T4a	N1b	M0
IIIC	Dowolny T	N2	M0
IVA	Dowolny T	Dowolny N	M1a
IVB	Dowolny T	Dowolny N	M1b

Założenia i cele pracy

1. Ocena ekspresji nektyny 2, 3 i 4 w guzach nowotworowych jelita grubego u pacjentów leczonych operacyjnie w Klinice Chirurgicznej 4 WSK z powodu raka jelita grubego,
2. Analiza czasu przeżycia pacjentów leczonych operacyjnie w Klinice Chirurgicznej 4 WSK z powodu raka jelita grubego w zależności od zbadanego stopnia ekspresji nektyny 2, 3 i 4 w preparatach histopatologicznych usuniętych guzów nowotworowych jelita grubego - ocena możliwości wykorzystania ekspresji nektyny 2, 3 i 4 jako czynników prognostycznych dla pacjentów z rakiem jelita grubego
3. Analiza ekspresji nektyny 2, 3 i 4 w zależności od różnych czynników socjo-demograficznych i klinicznych pacjentów leczonych operacyjnie w Klinice Chirurgicznej 4 WSK z powodu raka jelita grubego,

Materiał i metody

Zaplanowane badanie na potrzeby rozprawy doktorskiej ma charakter retrospektywny, nieinterwencyjny, opiera się na analizie danych medycznych wybranych historii chorób oraz ponowną oceną preparatów histopatologicznych pobranych podczas leczniczych zabiegów operacyjnych. Badanie nie wiąże się z żadnym ryzykiem dla pacjentów. Stosownie do wymogów określonych odpowiednim przepisem ustawowym badanie uzyskało pozytywną opinię Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Piastów Śląskich. (Nr KB – 764/2021) oraz pisemną zgodę Komendanta 4 WSK (załączniki 1 i 2). Grupę badaną stanowią pacjenci Kliniki Chirurgicznej 4 Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką we Wrocławiu leczeni operacyjnie z powodu raka jelita grubego w latach 2013-2014.

Zidentyfikowano i przeanalizowano wstępnie 124 historie choroby z rozpoznaniem ICD-10: C18, C19 lub C20. Ze względu na odmienną etiologię, prognozę i leczenie, pacjenci z rakiem kanału odbytu i odbytu (ICD-10 C21) nie zostali włączeni do badania. Po wstępnej analizie i weryfikacji włączono do dalszego badania 106 pacjentów. Z archiwum Zakładu Patomorfologii 4. Wojskowego Szpitala Klinicznego uzyskano bloczki parafinowe oraz preparaty histopatologiczne wszystkich włączonych pacjentów. Trudności natury technicznej napotkane w trakcie procesu oznaczania ekspresji nekryn w preparatach histopatologicznych spowodowały, że część z nich nie nadawała się do miarodajnej oceny. Ostatecznie do badania zakwalifikowano 92 pacjentów. Następnie prześledzono dalsze losy chorych uwzględniając daty i przyczyny zgonów, jeśli wystąpiły. Dla całkowitego czasu przeżycia datę końca obserwacji przyjęto na dzień 25.02.2023 r. w którym otrzymano końcowy raport Urzędu Stanu Cywilnego we Wrocławiu potwierdzający status pacjentów w badaniu.

Grupa badana

W grupie badanej znalazło się 37 kobiet (40,22%) i 55 mężczyzn (59,78%) w wieku od 48 do 90 lat. (Tabela 7) Tylko 1 spośród 92 pacjentów (1,08%) był poniżej 50 roku życia. Średni wiek pacjenta w chwili operacji wynosił 67,93 lat. Pośród leczonych, 61 (66,3 %) miało raki lewej połowy jelita grubego a 31 prawej połowy jelita grubego (33,7%). Przedstawiona charakterystyka grupy badanej znajduje odzwierciedlenie w generalnej strukturze

zachorowań pod względem płci, wieku, lokalizacji guza wśród polskich pacjentów w tym czasie.^{95,96} Wszystkie przypadki włączone do badania dotyczyły gruczolakoraków jelita grubego.

Tabela 7. Statystyka opisowa

		<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>Me</i>
Wiek		67,93	10,21	66,00
BMI		25,48	4,45	24,59
			<i>n</i>	%
Płeć	Kobiety		37	40,22
	Mężczyźni		55	59,78
Lokalizacja	Lewa połowa jelita grubego		61	66,30
	Prawa połowa jelita grubego		31	33,70
Nikotynizm	Nie		56	60,87
	Tak		36	39,13
Nadużywanie alkoholu	Nie		86	93,48
	Tak		6	6,52
Typ zabiegu	Brzusno-kroczone odjęcie odbytnicy		2	2,17
	Przednia resekcja odbytnicy		43	46,74
	Hemikolektomia lewostronna		11	11,96
	Hemikolektomia prawostronna		29	31,52
	Sigmoidektomia		4	4,35
	Resekcja poprzecznicy		3	3,26
Zabieg laparoskopowy	Nie		59	64,13
	Tak		33	35,87
Stopień zaawansowania wg. AJCC 8. edycja	1		27	29,35
	2		32	34,78
	3		22	23,91
	4		11	11,96
Dodatni wywiad rodzinny w kierunku RJG	Nie		86	93,48
	Tak		6	6,52

M – średnia; *SD* – odchylenie standardowe; *Me* – mediana; *n* – liczebność

Ocena preparatów i badania immunohistochemiczne

Celem oceny ekspresji białek Nectin 2, Nectin 3 i Nectin 4 wykorzystano metodę immunohistochemiczną. Bloczki parafinowe do badań immunohistochemicznych wytypowano na podstawie preparatów histopatologicznych barwionych metodą HE. Z każdego przypadku wytypowano po jednym bloczku parafinowym. Z wybranych bloczków przygotowano preparaty do barwień immunohistochemicznych przeciwko przeciwciałom: Nectin 2 (Invitrogen, przeciwciało poliklonalne o numerze katalogowym PA5-82470, zastosowane rozcieńczenie 1:200), Nectin 3 (Invitrogen, przeciwciało poliklonalne o numerze katalogowym PA5-82410, zastosowane rozcieńczenie 1:75) i Nectin 4 (Invitrogen, przeciwciało poliklonalne o numerze katalogowym PA5-98636, zastosowane rozcieńczenie 1:250). Barwienia immunohistochemiczne wykonano z zastosowaniem barwiarki Autostainer Link 48 (Dako). Celem uwidocznienia reakcji wykorzystano zestaw do wizualizacji Envision FLEX+ (Dako) oraz DAB (3,3'-diaminobenzzydyna) jako chromogen. Zgodnie z instrukcją producenta przeciwciał zastosowano kontrole zewnętrzne:

- Dla nektyny 2 i 3 kontrolę stanowiła tkanka łożyska
- Dla nektyny 4 kontrolę stanowił gruczolakorak trzustki

Do oceny ekspresji nektyn w preparatach histopatologicznych posługiwano się 2 metodami:

1. metodą ilościową: na podstawie odsetka komórek wykazujących ekspresję, z podziałem ekspresji na negatywną ($\leq 50\%$ komórek) i pozytywną ($> 50\%$ komórek)
2. systemem klasyfikacji IRS (immuno reactive score), na który składa się iloczyn punktowego odpowiednika odsetka komórek prezentujących antygen i punktowego odpowiednika intensywności wybarwienia preparatu.⁹⁷⁻⁹⁹

Wykorzystano następujący wzór:

$$\% \text{ komórek wykazujących ekspresję} \times \text{intensywność wybarwienia} = \text{punkty IRS}$$

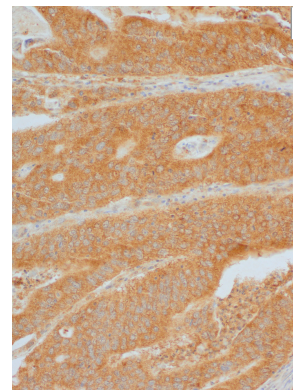
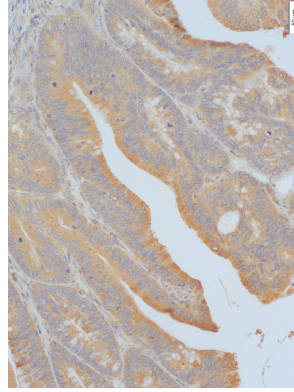
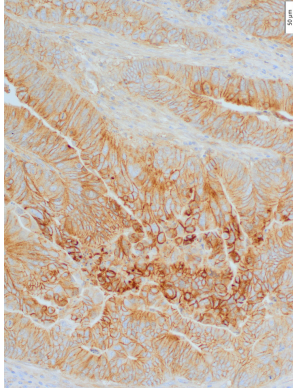
Otrzymany wynik interpretowano zgodnie z kryteriami przedstawionymi w tabeli 8. W analizie statystycznej wykorzystywano również podział na pacjentów, u których nie wykryto w preparatach ekspresji (IRS 0-1) oraz pacjentów, u których w preparatach wykryto ekspresję (IRS 2-12).

Tabela 8. Klasyfikacja IRS

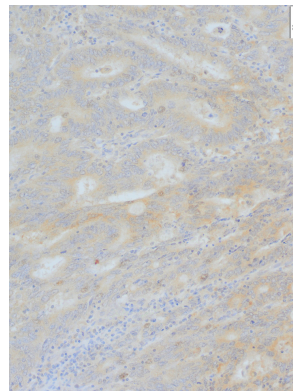
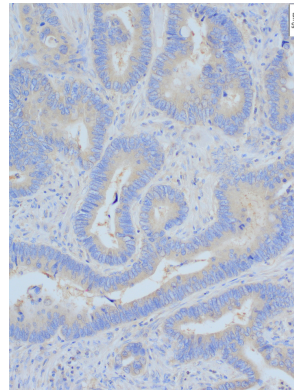
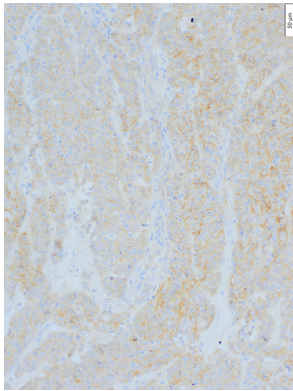
Odsetek komórek wykazujący ekspresję		Intensywność wybarwienia
0- Komórki nie wykazują ekspresji	X	0- brak barwnej reakcji
1- <10% komórek		1- słaba reakcja wybarwienia
2- 10-50%		2- umiarkowana reakcja wybarwienia
3- 51-80%		3- silna reakcja wybarwienia
4- >80%		
Klasyfikacja IRS		
0-1 -brak ekspresji		
2-3 -słaba ekspresja		
4-8 -umiarkowana ekspresja		
9-12 -silna ekspresja		

Reakcje immunohistochemiczne oceniane były wspólnie przez dr n. med. Pawła Gajdzisa (promotor pomocniczy doktoratu) oraz lek. Jakuba Kobeckiego (doktorant). Wykorzystywano mikroskop świetlny (Olympus BX46) z cyfrową kamerą (Olympus SC180) i dodatkowy ekran zewnętrzny, który pozwalał jednocześnie oglądać preparaty. Oceniający dokonywali indywidualnie przyznania punktów w klasyfikacji IRS. W przypadku gdy punktacje ocenających nie były zgodne, wszystkie rozbieżności dyskutowano i ustalano wspólny, odpowiadający obu ocenającym wynik klasyfikacji IRS. W ocenianych preparatach nektyna 2 wykazywała głównie ekspresję błonową, a częściowo błonowo-cytoplazmatyczną. Obserwowane ekspresje nektyń 3 i 4 miały głównie charakter cytoplazmatyczny i częściowo błonowo-cytoplazmatyczny. W trakcie oceniania preparatów histopatologicznych Wybrane przykłady odpowiadające konkretnym stopniom ekspresji wg. Klasyfikacji IRS przedstawia rycina 7.

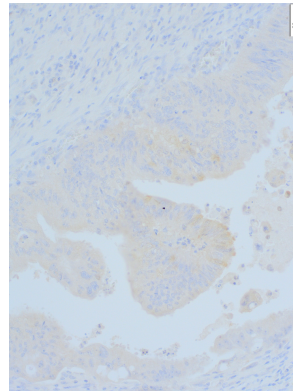
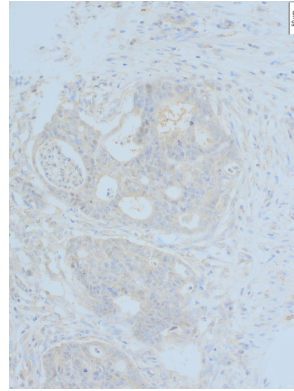
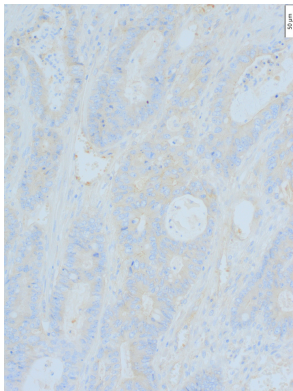
wysoka ekspresja



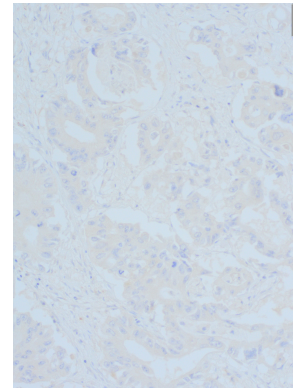
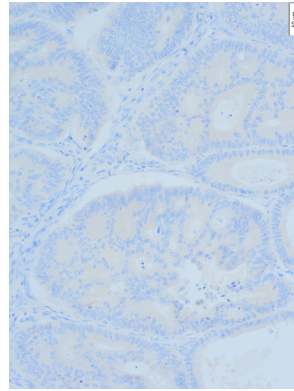
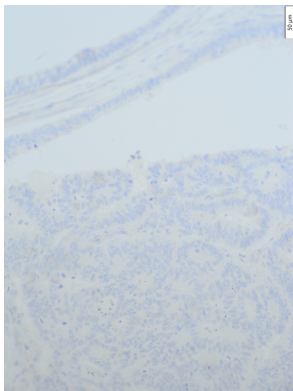
umiarkowana ekspresja



słaba ekspresja



bez ekspresji



Nektyna 2

Nektyna 3

Nektyna 4

Rycina 7. Reprezentacja klasyfikacji IRS na przykładowych preparatach grupy badanej.

Analizowane czynniki

Utworzono bazę danych o pacjentach grupy badanej zawierającą następujące czynniki:

1. Płeć (K/M)
2. Wiek (lata)
3. Waga (kg)
4. Wzrost (cm)
5. BMI (kg/m²)
6. Lokalizacja guza w jelicie grubym (wydzielone grupy: strona prawa/lewa oraz prawa/lewa/odbytnica)
7. Wielkość guza (cm)
8. Wynik badania histopatologicznego:
 - Ocena stopnia histologicznego zróżnicowania (skala dwustopniowa: niski/wysoki)
 - Stopień zaawansowania na podstawie klasyfikacji TNM (AJCC/UICC)
 - Komponenta śluzowa (tak/nie)
 - Stopień zaawansowania RJG (AJCC/UICC)
9. Narząd, w którym wykryto przerzuty, jeśli występowały
10. Nikotyzm (tak/nie)
11. Nadużywanie alkoholu (tak/nie)
12. Cholecystektomia w przeszłości (tak/nie)
13. Grupa krwi (układ ABO i Rh)
14. Dodatni wywiad rodzinny w kierunku RJG (tak/nie)
15. Technika zabiegu operacyjnego (klasyczny/laparoskopowy)
16. Zakres resekcji jelita grubego (rodzaj zabiegu)
17. Data zabiegu operacyjnego
18. Data zgonu, jeżeli wystąpił
19. Przyczyna śmierci (RJG/inna)
20. Całkowity czas przeżycia liczony od dnia zabiegu (dni)
21. Czas przeżycia do wznowy/progresji RJG (miesiące)
22. Przedoperacyjne stężenie antygenu rakowo-płodowego CEA (ng/ml)

23. Przedoperacyjne stężenie Ca-19.9 (U/ml)

24. Ekspresja nektyny 2, 3 i 4 w preparatach histopatologicznych pobranych podczas zabiegów operacyjnych:

- procent komórek wykazujących ekspresję (0-3)

- intensywność ekspresji (0-4)

- wynik IRS (iloczyn wyników intensywności ekspresji i procentowego udziału komórek wykazujących ekspresję)

- ocena ekspresji na podstawie powyższych zmiennych (brak ekspresji, niska, średnia, wysoka)

- ocena ekspresji na podstawie odsetka komórek wykazujących ekspresję ($\leq 50\%$ vs. $>50\%$ komórek)

Analiza statystyczna

- W celu weryfikacji czasu przeżycia pacjentów w zależności od zmierzonego stopnia ekspresji nekryn w preparatach histopatologicznych przeprowadzono analizę przeżycia przy użyciu estymacji funkcji przeżycia Kaplana-Meiera. Porównanie krzywych Kaplana-Meiera wykonano za pomocą testu log-rank.
- W celu weryfikacji różnic pomiędzy czynnikami mierzonymi za pomocą zmiennych ilościowych oraz porządkowych przeprowadzono serię porównań przy użyciu testu t Studenta dla prób niezależnych.
- Z uwagi na złamanie założeń normalności rozkładów zmiennych oraz wyraźną nierównoliczność w porównywanych grupach parametryczne analizy zostały uzupełnione o nieparametryczne odpowiedniki (testy Manna-Whitney'a).
- Analizę wpływu zmiennych ilościowych na przeżywalność analizowano za pomocą modelu hazardów proporcjonalnych Coxa. Wyniki przedstawiono w postaci współczynników HR (hazard ratio, hazard względny) z 95-procentowym przedziałem ufności. Normalność rozkładu zmiennych badano za pomocą testu Shapiro-Wilka.
- W analizie przyjęto poziom istotności 0,05 → wszystkie wartości p poniżej 0,05 interpretowano jako świadczące o istotnych statystycznie zależnościach.
- W celu zagwarantowania rzetelności wyników badań i doboru właściwych metod statystycznych nawiązano współpracę z doświadczonym statystykiem medycznym.

Zastosowane oprogramowanie

- Analizę statystyczną wykonano w programie SPSS Statistica wersja 28.0.1,
- Bazę danych sporządzono w arkuszach kalkulacyjnych Microsoft Excel, wersja 2.70.1
- Opracowanie tekstu wykonano w edytorze tekstu Microsoft Word, wersja 16.47, z rozszerzeniem do obsługi cytowań Mendeley Cite, wersja 1.56.1
- Opracowanie rycin wykonano w programie Apple Preview, wersja 11.0 oraz Canva, wersja 1.64.0

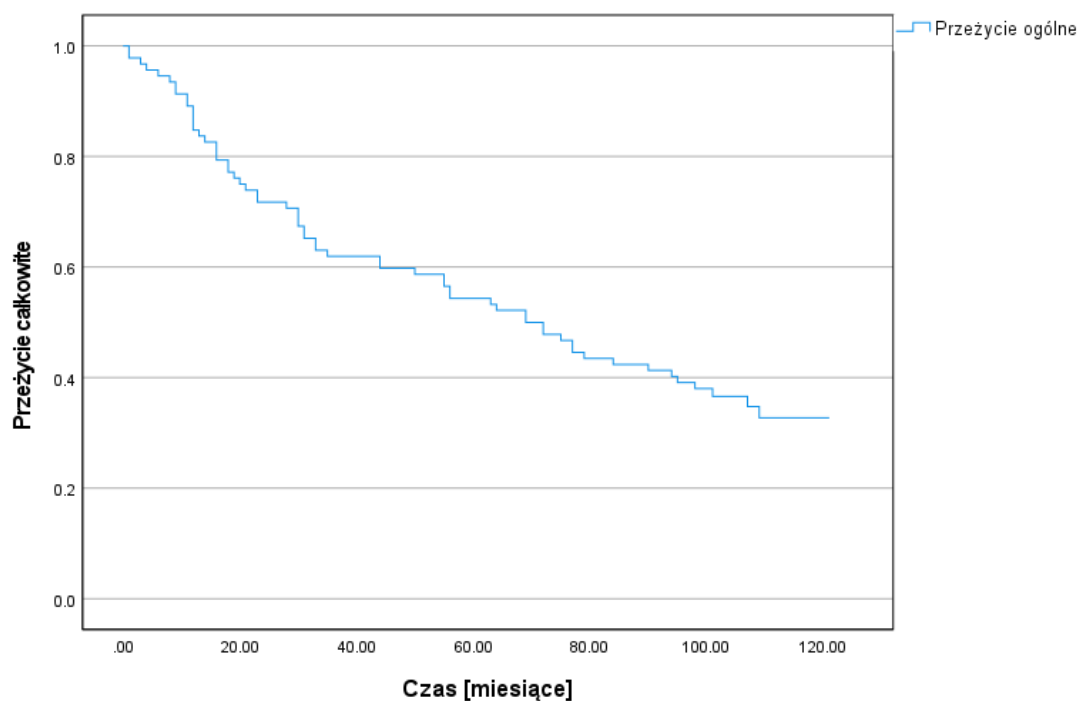
Wyniki

Ogólna analiza przeżycia pacjentów

Tabela 9. Wskaźniki przeżycia dla przedziałów czasowych

Przeżycie	n pacjentów	n zgonów	% przeżycia	M(miesiące)	SE	95% CI	
						LLCI	ULCI
3-letnie	92	35	61,96%	28,91	1,13	26,70	31,13
5-letnie	92	42	54,35%	43,12	2,22	38,78	47,46
Ogólne	92	60	34,78%	68,58	4,75	59,27	77,89

M – średnia; SD – odchylenie standardowe; LL i UL – dolna i górna granica 95% przedziału ufności



Rycina 8. Funkcja całkowitego przeżycia pacjentów z grupy badanej.

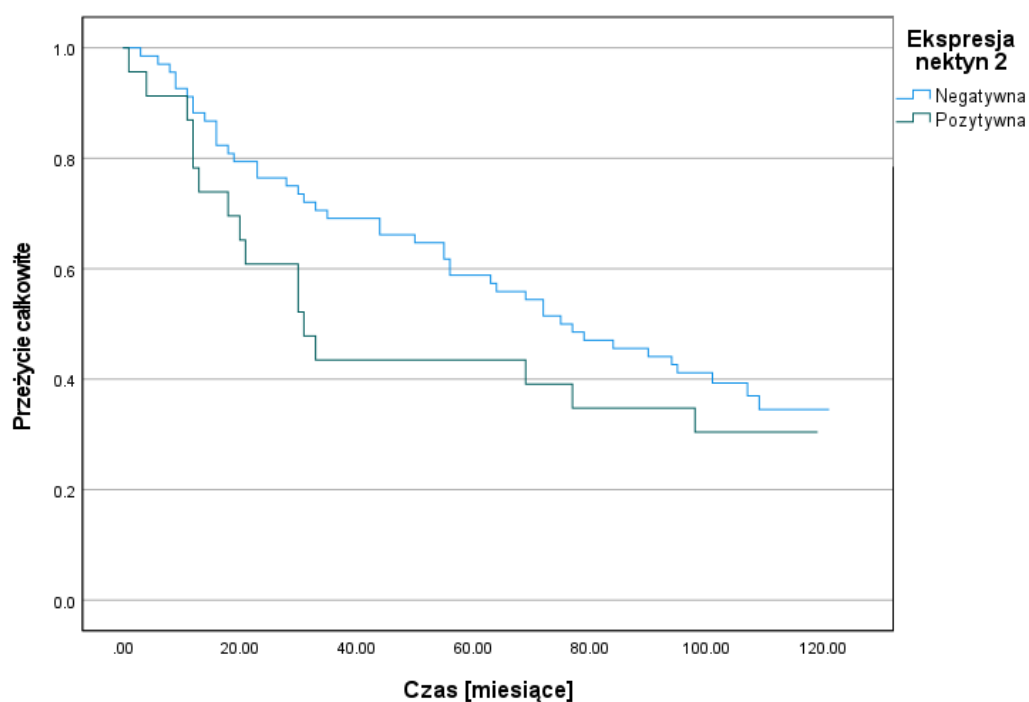
Analiza przeżycia pacjentów w zależności o mierzonej ekspresji nektyń 2,3 i 4

W celu weryfikacji różnic w funkcjach przeżycia 5-letniego i całkowitego, wynikających z obserwowanej ekspresji wybranych nektyń, przeprowadzono odrębne serie analiz w zależności od przyjętej metody interpretacji badań immunohistochemicznych. W pierwszej kolejności wykonano analizę dla nektyń 2, 3 i 4 podzielonych ze względu na odsetek komórek wykazujący ekspresję nektyń. Punktem odcięcia dla preparatów z pozytywną lub negatywną ekspresją nektyń było stwierdzenie ponad 50% komórek wykazujących ekspresję ($>50\%$). W tabeli 13. zostały zaprezentowane analizowane częstości, średnie długości przeżycia wraz z odchyleniami standardowymi, 95% przedziałami ufności oraz wynikami testów log-rank. Wynik testu okazał się istotny statystycznie w modelach dla nektyń 3 oraz 4. Oznacza to, że funkcje przeżycia różnią się istotnie statystycznie. W modelach, pacjenci z pozytywną ($\geq 50\%$ komórek) ekspresją nektyń 4 i negatywną ($<50\%$ komórek) ekspresją nektyń 3 charakteryzowali się krótszym średnim czasem przeżycia. Funkcje przeżycia zostały zaprezentowane na rycinach 9, 10 i 11.

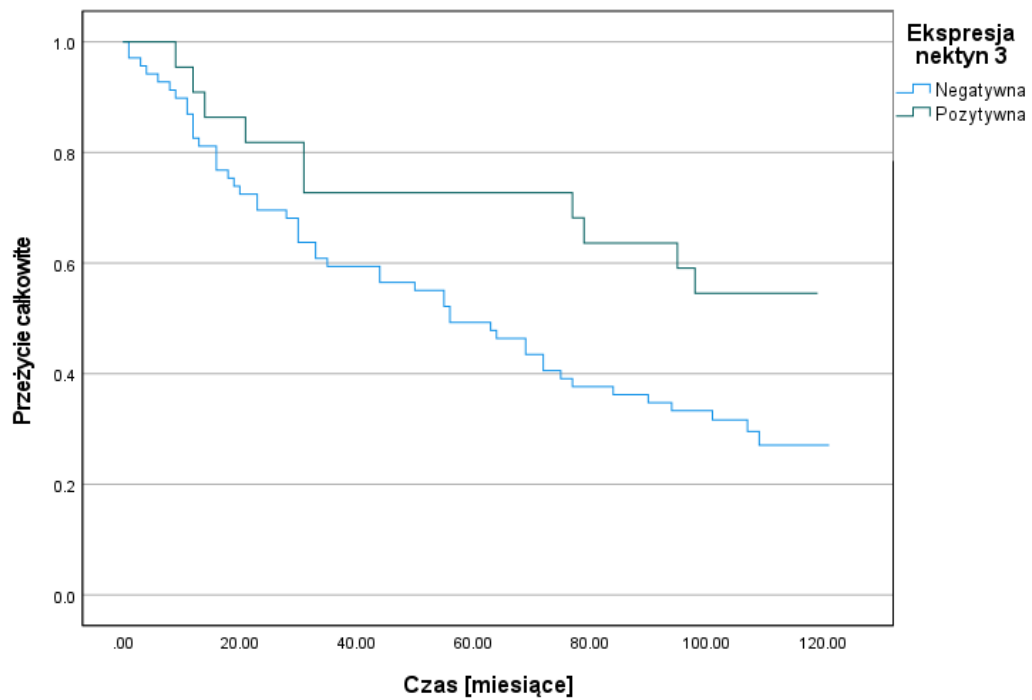
Tabela 10. Wyniki analiz przeżycia całkowitego dla pozytywnej i negatywnej ekspresji nektyn

Nektyny	Ekspresja	n pacjentów	n zgonów	%	M	SE	95% CI		χ^2
							LLCI	ULCI	
2	Negatywna	68	43	36.76%	73.33	5.31	62.92	83.74	1.28
	Pozytywna	23	16	30.43%	57.09	9.73	38.02	76.16	
3	Negatywna	69	49	28.99%	63.50	5.37	52.96	74.03	4.25*
	Pozytywna	22	10	54.55%	86.14	9.12	68.25	104.02	
4	Negatywna	29	12	58.62%	98.75	5.84	87.32	110.19	14.45***
	Pozytywna	62	48	22.58%	53.71	5.58	42.77	64.64	

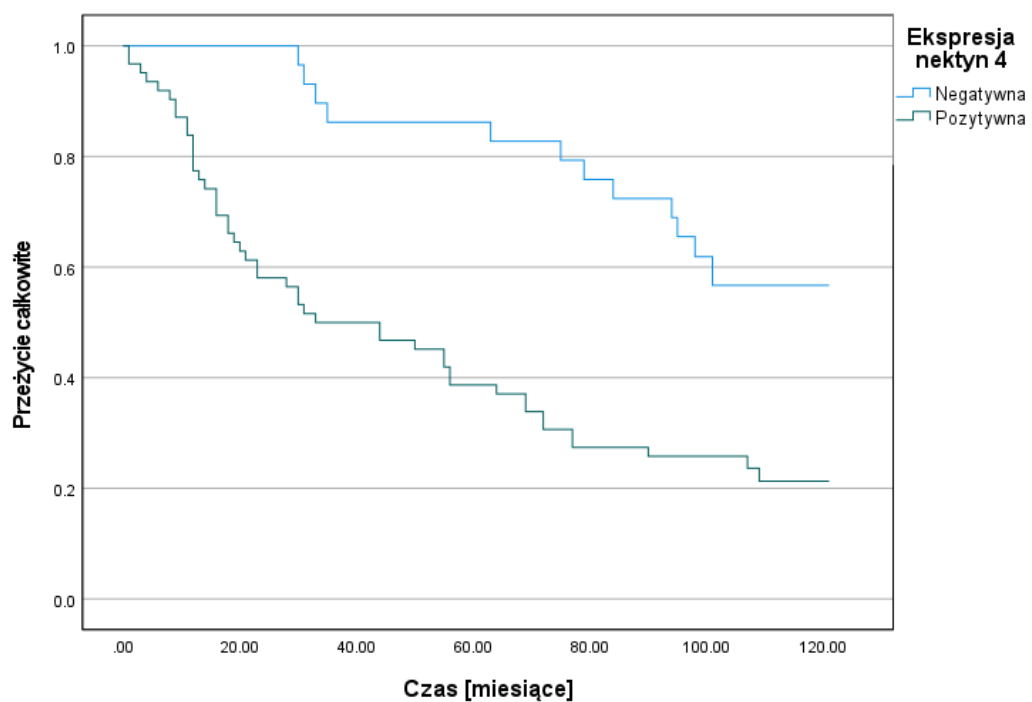
M – średnia; SD – odchylenie standardowe; LL i UL – dolna i górna granica 95% przedziału ufności, χ^2 – wynik testu chi-kwadrat



Rycina 9. Funkcje całkowitego przeżycia dla negatywnej i pozytywnej ekspresji nektyn 2



Rycina 10. Funkcje całkowitego przeżycia dla negatywnej i pozytywnej ekspresji nektyn 3.



Rycina 11. Funkcje całkowitego przeżycia dla negatywnej i pozytywnej ekspresji nektyn 4.

W kolejnym kroku, w celu weryfikacji różnic w funkcjach przeżycia 5-letniego i całkowitego, wynikających z negatywnej, niskiej, średniej lub wysokiej ekspresji nektyn (2, 3 i 4) w oparciu o klasyfikację IRS (immunoreactivity scoring system) przeprowadzono serię analiz przeżycia z wykresem Kaplan-Meier'a osobno dla ekspresji nektyn 2, 3 oraz 4. W tabeli 14 zostały zaprezentowane analizowane częstości, średnie długości przeżycia wraz z odchyleniami standardowymi, 95% przedziałami ufności oraz wynikami testów log-rank. Wynik testu log-rank okazał się istotny statystycznie jedynie w przypadku modelu dla ekspresji nektyny 4. Oznacza to, że funkcje przeżycia różniły się istotnie statystycznie. Pacjenci z wysoką ekspresją nektyn 4 charakteryzowali się najkrótszym średnim czasem przeżycia oraz największą śmiertelnością. Funkcje przeżycia zostały zaprezentowane na rycinach 12,13,14.

Tabela 11. Wyniki analiz przeżycia 5-letniego dla ekspresji nektyn 2,3 i 4 wg. Klasyfikacji IRS

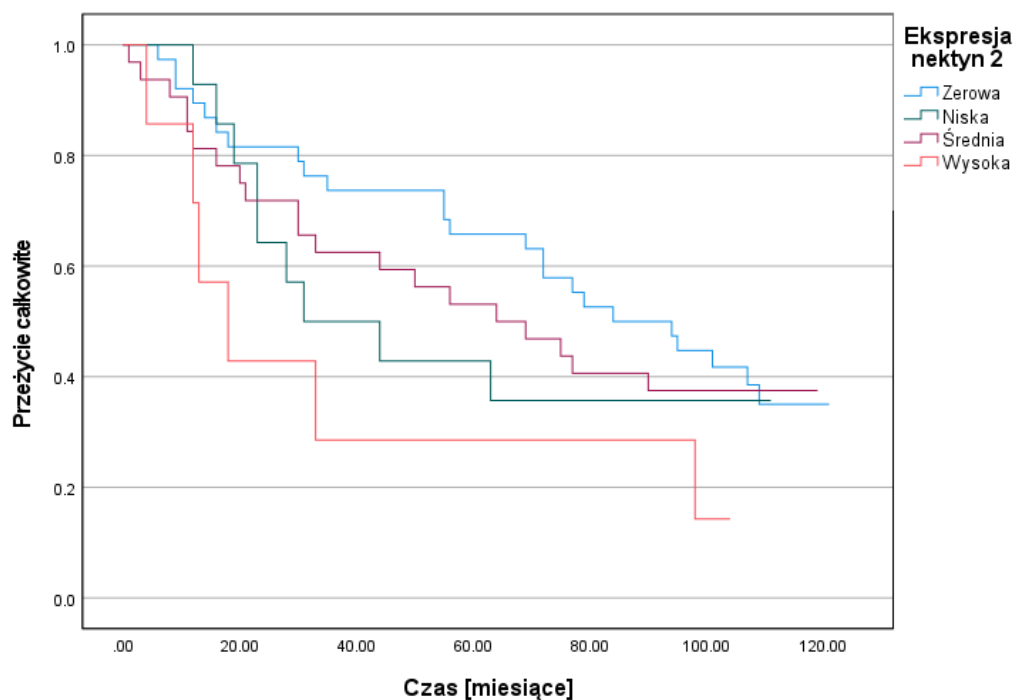
Nektyna	Ekspresja	Liczba pacjentów	Liczba zgonów	% przeżycia	M	SE	95% CI		χ^2
							LLCI	ULCI	
2	Zerowa	38	13	65,79%	48,66	3,09	42,60	54,72	5,98
	Niska	14	8	42,86%	39,29	5,07	29,35	49,22	
	Średnia	32	15	53,13%	42,69	3,82	35,21	50,17	
	Wysoka	7	5	28,57%	28,71	8,06	12,93	44,50	
3	Zerowa	34	20	41,18%	38,35	3,82	30,86	45,85	5,17
	Niska	26	11	57,69%	43,96	4,15	35,82	52,10	
	Średnia	26	9	65,38%	47,73	3,73	40,42	55,04	
	Wysoka	5	1	80,00%	52,20	6,98	38,53	65,87	
4	Zerowa	11	1	90,91%	57,55	2,34	52,96	62,13	31,90***
	Niska	9	1	88,89%	56,78	3,04	50,82	62,73	
	Średnia	30	9	70,00%	50,17	3,16	43,98	56,35	
	Wysoka	41	31	24,39%	30,68	3,37	24,08	37,29	

Tabela 12. Wyniki analiz przeżycia całkowitego dla ekspresji nektyn 2,3 i 4 wg. Klasyfikacji IRS

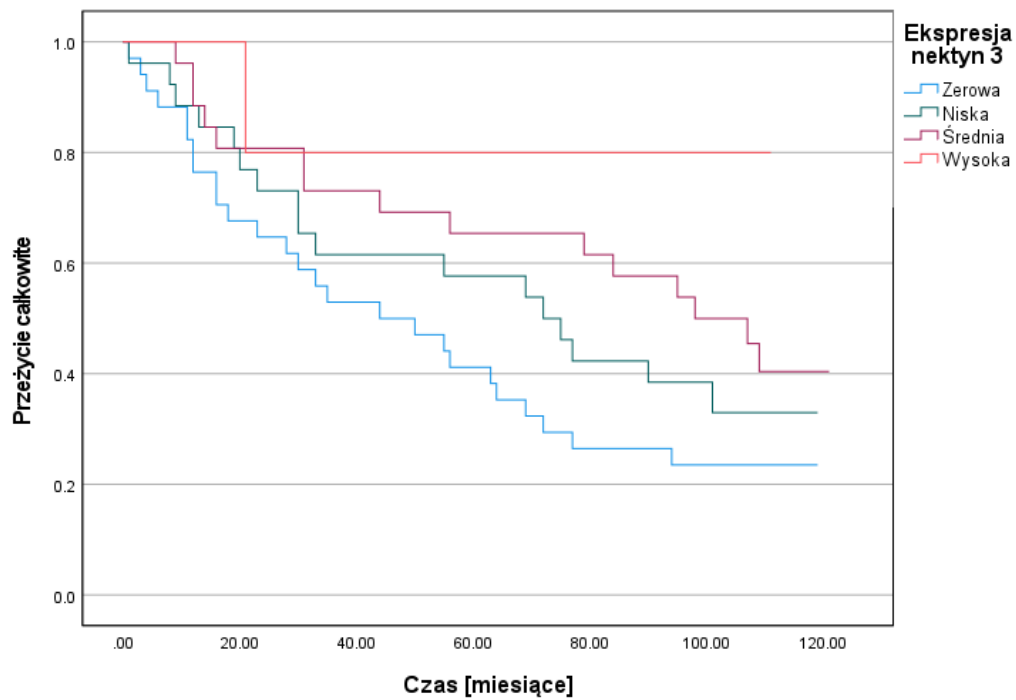
Nektyna	Ekspresja	n pacjentów	n zgonów	% przeżycia	M	SE	95% CI		χ^2
							LLCI	ULCI	
2	Zerowa	38	24	36,84%	78,67	6,81	65,33	92,01	3,94
	Niska	14	9	35,71%	58,14	11,01	36,57	79,72	
	Średnia	32	20	37,50%	67,16	8,04	51,40	82,91	
	Wysoka	7	6	14,29%	40,29	14,85	11,19	69,39	
3	Zerowa	34	26	23,53%	54,56	7,29	40,27	68,84	7,67
	Niska	26	17	34,62%	68,78	8,62	51,88	85,68	
	Średnia	26	15	42,31%	81,60	8,57	64,81	98,40	
	Wysoka	5	1	80,00%	93,00	16,10	61,45	124,56	
4	Zerowa	11	2	81,82%	110,55	7,75	95,35	125,74	39,27***
	Niska	9	5	44,44%	92,14	8,49	75,49	108,79	
	Średnia	30	15	50,00%	84,43	7,67	69,40	99,47	
	Wysoka	41	38	7,32%	38,54	5,44	27,87	49,21	

M – średnia; SD – odchylenie standardowe; LL i UL – dolna i górna granica 95% przedziału ufności, χ^2 – wynik testu chi-

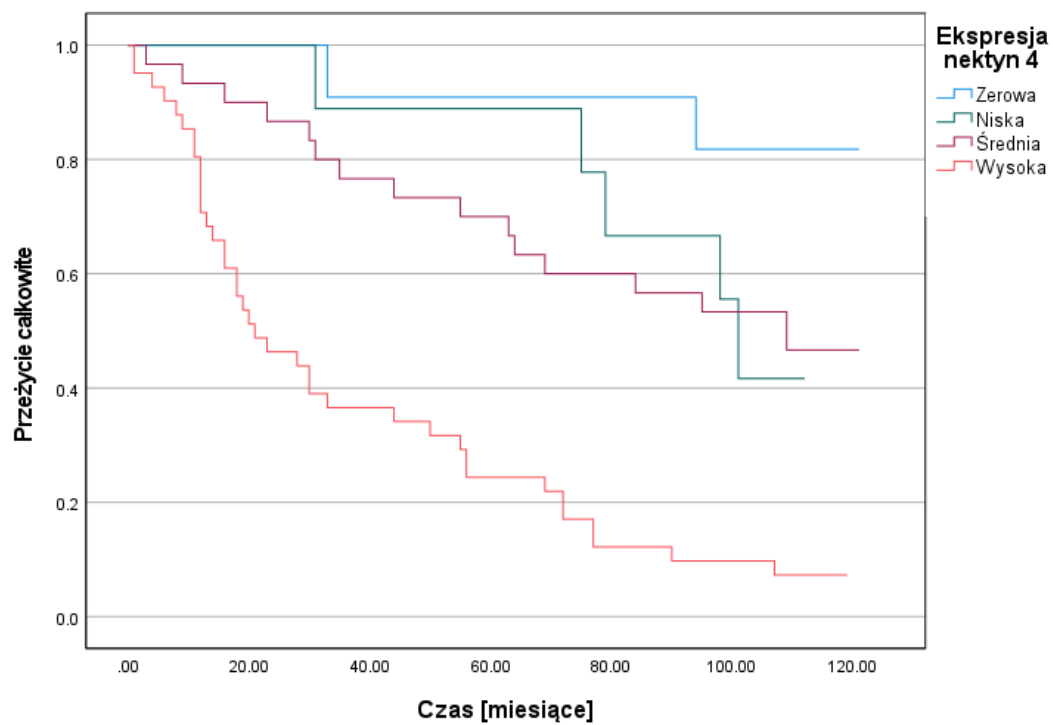
kwadrat



Rycina 12. Funkcje całkowitego przeżycia dla 4-stopniowej skali ekspresji nektyn 2.



Rycina 13. Funkcje całkowitego przeżycia dla 4-stopniowej skali ekspresji nektyn 3.



Wykres 14. Funkcje całkowitego przeżycia dla 4-stopniowej skali ekspresji nektyn 4.

Po analizie wcześniejszych wyników dla nektyny 3, zdecydowano na dodatkową weryfikację różnic w funkcjach przeżycia, opartą na klasyfikacji IRS z alternatywnym podziałem. Pacjentów podzielono na grupy bez ekspresji (ekspresja zerowa, IRS 0-1) i z pozytywną ekspresją (wcześniej jako niska, umiarkowana i wysoka, IRS 2-12). Przeprowadzono serię analiz przeżycia z wykresem Kaplan-Meier'a osobno dla ekspresji nektyń 2, 3 oraz 4. W tabeli 14 zostały zaprezentowane analizowane częstości, średnie długości przeżycia wraz z odchyleniami standardowymi, 95% przedziałami ufności oraz wynikami testów log-rank. Wynik testu log-rank okazał się istotny statystycznie w przypadku modeli dla ekspresji nektyń 3 i 4. Oznacza to, że funkcje przeżycia różniły się istotnie statystycznie. Pacjenci z wysoką ekspresją nektyń 4 charakteryzowali się najkrótszym średnim czasem przeżycia oraz największą śmiertelnością. Funkcje przeżycia zostały zaprezentowane na rycinach 15, 16 i 17

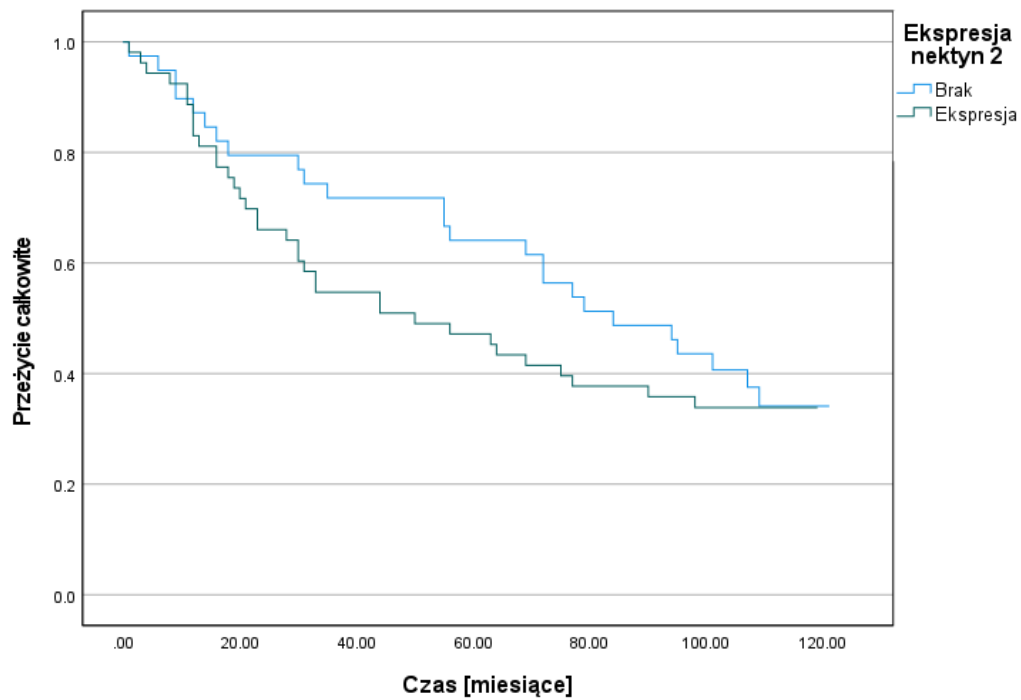
Tabela 13. Wyniki analiz przeżycia 5-letniego dla ekspresji nektyń wg. Klasyfikacji IRS (0-1) vs. (2-12)

Nektyna	Ekspresja	Liczba pacjentów	Liczba zgonów	% przeżycia	M	SE	95% CI		χ^2
							LLCI	ULCI	
2	Zerowa	39	14	64.10%	47.44	3.25	41.07	53.80	2.56
	Eskpresja	53	28	47.17%	39.94	2.94	34.18	45.70	
3	Zerowa	34	20	41.18%	38.35	3.82	30.86	45.85	3.98*
	Eskpresja	58	22	62.07%	45.91	2.64	40.74	51.09	
4	Zerowa	11	1	90.91%	57.55	2.34	52.96	62.13	5.56*
	Eskpresja	81	41	49.38%	41.16	2.42	36.43	45.90	

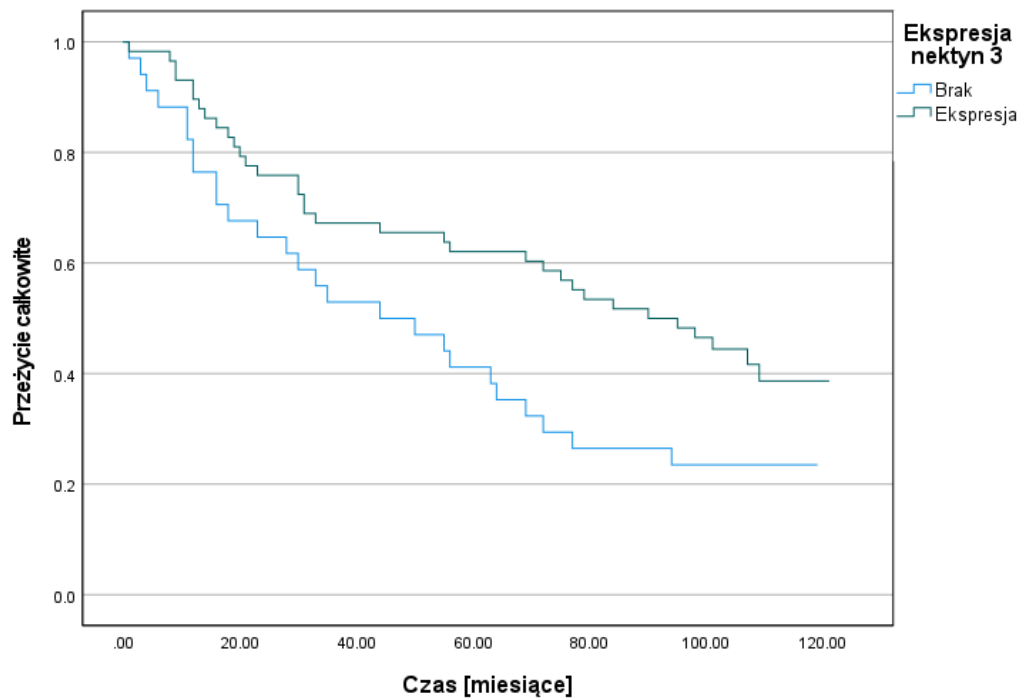
M – średnia; SD – odchylenie standardowe; LL i UL – dolna i górna granica 95% przedziału ufności, χ^2 – wynik testu chi-kwadrat

Tabela 14. Wyniki analiz przeżycia całkowitego dla ekspresji nektyń wg. Klasyfikacji IRS (0-1) vs. (2-12)

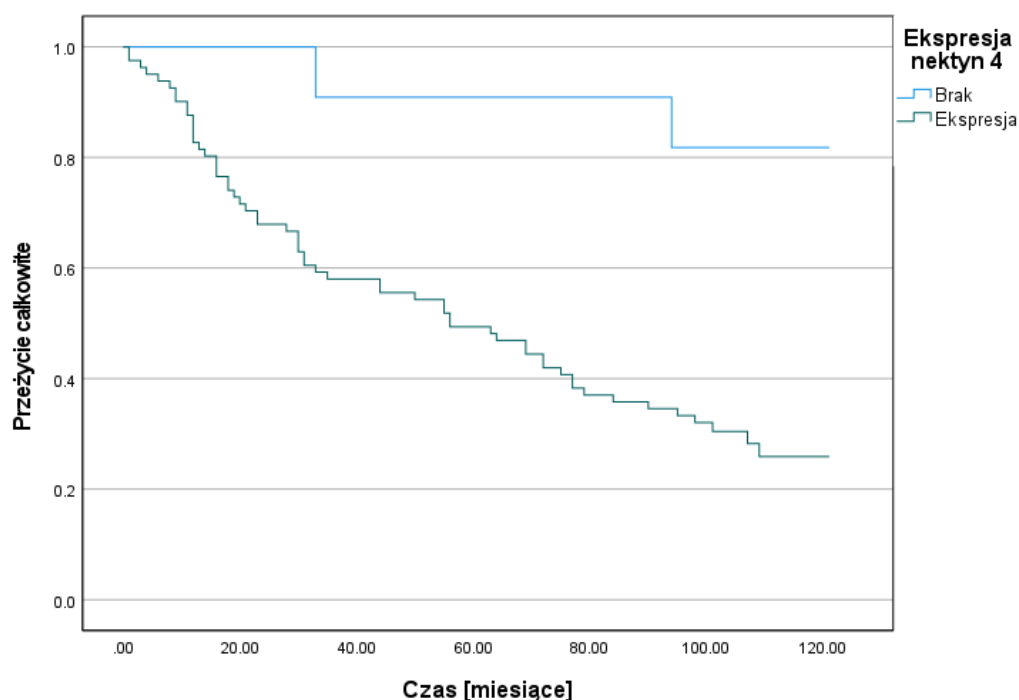
Nektyna	Ekspresja	Liczba pacjentów	Liczba zgonów	% przeżycia	M	SE	95% CI		χ^2
							LLCI	ULCI	
2	Brak	39	25	35,90%	76,67	6,92	63,12	90,23	0,87
	Eskpresja	53	35	33,96%	62,24	6,28	49,94	74,55	
3	Brak	34	26	23,53%	54,56	7,29	40,27	68,84	5,05*
	Eskpresja	58	34	41,38%	76,61	5,91	65,02	88,20	
4	Brak	11	2	81,82%	110,55	7,75	95,35	125,74	8,95**
	Eskpresja	81	58	28,40%	62,86	4,96	53,14	72,58	



Rycina 15. Funkcje całkowitego przeżycia dla nektyny 2 i alternatywnej klasyfikacji IRS (0-1) vs. (2-12)



Rycina 16. Funkcje całkowitego przeżycia dla nektyny 3 i alternatywnej klasyfikacji IRS (0-1) vs. (2-12)



Rycina 17. Funkcje całkowitego przeżycia dla nektyny 4 i alternatywnej klasyfikacji IRS (0-1) vs. (2-12)

Przeprowadzono również analizę ekspresji nektyn 2,3 i 4, zgodnie z przyjętymi wcześniej metodami podziału, a ryzyka zgonu w okresie całej obserwacji. Analizowano za pomocą modelu hazardów proporcjonalnych Coxa. Wyniki przedstawiono w postaci współczynników HR (hazard ratio, hazard względny) z 95-procentowym przedziałem ufności. Zgodnie z przedstawionymi wcześniej wynikami, obserwowane większe ryzyko zgonu wśród pacjentów z wyższą ekspresją nektyny 2 nie ma istotności statystycznej. N

Tabela 15. Współczynnik hazardu dla zgonu w zależności od ekspresji nektyn (wg. wyróżnionych podziałów) w całym okresie obserwacji.

	(B)	HR (95% CI dla HR)	Test walda	p
Ekspresja nektyny 2 IRS	0.17	1,2 (0,9-1,6)	1.5	0.22
Ekspresja nektyny 3 wg. %	-0.99	0,37 (0,16-0,87)	5.1	0.023*
Ekspresja nektyny 3 IRS	-0.16	0,29 (0,3-0,76)	2.1	0.28
Ekspresja nektyny 3 IRS (0-1 vs.2-12)	-0.61	0.54 (0.31-0.96)	4.4	0.036*
Ekspresja nektyny 4 wg. %	1.9	6,6 (2,6-17)	16	<0.001***
Ekspresja nektyny 4 IRS	1.4	4 (2,4-6,8)	27	<0.001***

Ekspresja nektyń 2,3 i 4 a pozostałe mierzone zmienne

W celu weryfikacji związków pomiędzy ekspresją nektyń 2, 3 i 4 (klasyfikacja IRS) a pozostałymi mierzonymi zmiennymi przeprowadzono analizę korelacji ze współczynnikami ρ Spearmana oraz r Pearsona. Na podstawie wyników zaprezentowanych w tabeli 16., stwierdzono, że ekspresja nektyńy 3 była ujemnie i słabo związana ze stężeniem CEA w surowicy pacjenta przed zabiegiem, z średnicą guza i stopniem zaawansowania RJG. Oznacza to, że wraz z wzrostem stężenia CEA, wzrostem średnicy guza mierzonej w cm i wzrostem stopnia zaawansowania RJG, malała ekspresja nektyńy 3. W przypadku nektyńy 4 stwierdzono, że jej ekspresja była dodatnio i umiarkowanie związana ze stężeniem CEA w surowicy pacjenta przed zabiegiem i stopniem zaawansowania RJG. Oznacza to, że wraz z wzrostem stężenia CEA i stopnia zaawansowania RJG, obserwowana ekspresja nektyńy 4 wzrastała. Korelacja ekspresji nektyńy 4 z cechą T była na granicy istotności statystycznej.

Tabela 16. Współczynniki korelacji ekspresji nektyń 2, 3 i 4 oraz pozostałych mierzonych zmiennych

		Nektyńy 2	Nektyńy 3	Nektyńy 4
Nektyńa 2	ρ Spearmana	-	-0,02	0,13
	Istotność	-	0,820	0,223
Nektyńa 3	ρ Spearmana	-0,02	-	-0,16
	Istotność	0,820	-	0,137
Nektyńa 4	ρ Spearmana	0,13	-0,16	-
	Istotność	0,223	0,137	-
Wiek	ρ Spearmana	-0,06	-0,07	0,01
	Istotność	0,546	0,535	0,962
BMI	ρ Spearmana	-0,02	0,03	-0,08
	Istotność	0,863	0,776	0,452
CEA	ρ Spearmana	0,13	-0,33**	0,45**
	Istotność	0,233	0,003	<0,001
Ca19	ρ Spearmana	0,15	-0,17	0,05
	Istotność	0,278	0,229	0,713
Tumor size	ρ Spearmana	-0,08	-0,30**	0,09
	Istotność	0,478	0,003	0,386
Stage	ρ Spearmana	0,07	-0,28**	0,43**
	Istotność	0,485	0,007	<0,001
T	ρ Spearmana	-0,02	-0,09	0,20
	Istotność	0,867	0,382	0,053
Wiek	ρ Spearmana	-0,06	-0,07	0,01
	Istotność	0,546	0,535	0,962

W celu weryfikacji związków pomiędzy ekspresją lub brakiem ekspresji nekryn 2, 3 oraz 4 a lokalizacją (guz prawej połowy lub lewej połowy jelita grubego oraz jelito grube vs. odbytnica), stopniem złośliwości histologicznej, płcią, nałogami, oraz T, N i M przeprowadzono serię analiz przy użyciu testu niezależności *chi*-kwadrat. W pierwszej kolejności zweryfikowano związki dla ekspresji nekryny 2. Na podstawie wyników zaprezentowanych w tabeli 17 stwierdzono istotny statystycznie związek ekspresji nekryny 2 z lokalizacją; Na podstawie skorygowanych reszt standaryzowanych stwierdzono, że ekspresja nekryny 2 związana była z lokalizacją guza w prawej połowie jelita grubego.

Tabela 17. Tabela krzyżowa dla ekspresji nektyny 2 oraz pozostałych zmiennych

			Ekspresja nektyny 2		χ^2	
			Brak	Ekspresja		
Lokalizacja	Lewa połowa	<i>n</i>	32	29	7,51**	
	Jelita grubego	% z ogółu	34,8%	31,5%		
				(2,7)		(-2,7)
	Prawa połowa	<i>n</i>	7	24		
Jelita grubego	% z ogółu	7,6%	26,1%			
			(-2,7)	(2,7)		
St. złośliwości histologicznej (grading)	Niski	<i>n</i>	33	49		2,31
		% z ogółu	35,9%	53,3%		
				(-1,2)	(1,2)	
	Wysoki	<i>n</i>	6	4		
	% z ogółu	6,5%	4,3%			
			(1,2)	(-1,2)		
Płeć	Kobieta	<i>n</i>	13	24	1,33	
		% z ogółu	14,10%	26,10%		
				(-1,2)		(1,2)
	Mężczyzna	<i>n</i>	26	29		
	% z ogółu	28,30%	31,50%			
			(1,2)	(-1,2)		
Nikotynizm	Nie	<i>n</i>	24	32		0,01
		% z ogółu	26,10%	34,80%		
				(0,1)	(-0,1)	
	Tak	<i>n</i>	15	21		
	% z ogółu	16,30%	22,80%			
			(-0,1)	(0,1)		
Nadużywanie alkoholu	Nie	<i>n</i>	36	50	0,15	
		% z ogółu	39,10%	54,30%		
				(-0,4)		(0,4)
	Tak	<i>n</i>	3	3		
	% z ogółu	3,30%	3,30%			
			(0,4)	(-0,4)		
Guz zlokalizowany w odbytnicy	Nie	<i>n</i>	33	44		0,04
		% z ogółu	35,90%	47,80%		
				(0,2)	(-0,2)	
	Tak	<i>n</i>	6	9		
	% z ogółu	6,50%	9,80%			
			(-0,2)	(0,2)		

Uwaga. W nawiasach zostały podane skorygowane reszty standaryzowane.

*** – $p < 0,001$; ** – $p < 0,010$; * – $p < 0,050$

Na podstawie wyników zaprezentowanych w tabeli 18 nie stwierdzono istotnych statystycznie związków z cechami T, N i M.

Tabela 18. Tabela krzyżowa dla ekspresji nektyny 2 oraz cech T, N i M

		Ekspresja nektyny 2		χ^2			
		Brak	Ekspresja				
T	1	<i>n</i>	3	3	0,15		
		% z ogółu	3,3%	3,3%			
			(0,4)	(-0,4)			
	2	<i>n</i>	11	19			
		% z ogółu	12,0%	20,7%			
			(-0,8)	(0,8)			
	3	<i>n</i>	24	27			
		% z ogółu	26,1%	29,3%			
			(1,0)	(-1,0)			
	4	<i>n</i>	1	4			
		% z ogółu	1,1%	4,3%			
			(-1,0)	(1,0)			
N	0	<i>n</i>	26	36	0,84		
		% z ogółu	28,3%	39,1%			
			(-0,1)	(0,1)			
	1	<i>n</i>	9	9			
		% z ogółu	9,8%	9,8%			
			(0,7)	(-0,7)			
	2	<i>n</i>	4	8			
		% z ogółu	4,3%	8,7%			
			(-0,7)	(0,7)			
	M	0	<i>n</i>	36		43	2,31
			% z ogółu	39,1%		46,7%	
				(1,5)		(-1,5)	
1		<i>n</i>	3	10			
		% z ogółu	3,3%	10,9%			
		(-1,5)	(1,5)				

Uwaga. W nawiasach zostały podane skorygowane reszty standaryzowane.

*** – $p < 0,001$; ** – $p < 0,010$; * – $p < 0,050$

Taką samą analizę wykonano w przypadku ekspresji nektyny 3. Nie stwierdzono istotnych statystycznie związków analizowanymi czynnikami demograficznymi i klinicznymi (Tabela 19.).

Tabela 19. Tabela krzyżowa dla ekspresji nektyny 3 oraz pozostałych zmiennych.

			Ekspresja nektyny 3		χ^2
			Brak	Ekspresja	
Lokalizacja	Lewa strona	<i>n</i>	24	37	0,44
		% z ogółu	26,1% (0,7)	40,2% (-0,7)	
	Prawa strona	<i>n</i>	10	21	
		% z ogółu	10,9% (-0,7)	22,8% (0,7)	
St. złośliwości histologicznej (grading)	Niski	<i>n</i>	30	52	0,05
		% z ogółu	32,6% (-0,2)	56,5% (0,2)	
	Wysoki	<i>n</i>	4	6	
		% z ogółu	4,3% (0,2)	6,5% (-0,2)	
Płeć	Kobieta	<i>n</i>	11	26	1,39
		% z ogółu	12,00% (-1,2)	28,30% (1,2)	
	Mężczyzna	<i>n</i>	23	32	
		% z ogółu	25,00% (1,2)	34,80% (-1,2)	
Palenie	Nie	<i>n</i>	22	34	0,33
		% z ogółu	23,90% (0,6)	37,00% (-0,6)	
	Tak	<i>n</i>	12	24	
		% z ogółu	13,00% (-0,6)	26,10% (0,6)	
Alkohol	Nie	<i>n</i>	32	54	0,04
		% z ogółu	34,80% (0,2)	58,70% (-0,2)	
	Tak	<i>n</i>	2	4	
		% z ogółu	2,20% (-0,2)	4,30% (0,2)	
Odbytnica	Nie	<i>n</i>	29	48	0,1
		% z ogółu	31,50% (0,3)	52,20% (-0,3)	
	Tak	<i>n</i>	5	10	
		% z ogółu	5,40% (-0,3)	10,90% (0,3)	

Uwaga. W nawiasach zostały podane skorygowane reszty standaryzowane.

*** – $p < 0,001$; ** – $p < 0,010$; * – $p < 0,050$

Stwierdzono natomiast istotny statystycznie związek pomiędzy ekspresją nektyny 3 a obecnością przerzutów. Na podstawie skorygowanych reszt standaryzowanych stwierdzono, że obecność przerzutów była związana z brakiem ekspresji nektyny 3 (Tabela 20).

Tabela 20. Tabela krzyżowa dla ekspresji nektyny 3 oraz T, N i M

		Ekspresja nektyny 3		χ^2
		Brak	Ekspresja	
T	<i>n</i>	2	4	0,76
	1 % z ogółu	2,2%	4,3%	
		(-0,2)	(0,2)	
	<i>n</i>	11	19	
	2 % z ogółu	12,0%	20,7%	
	(0,0)	(0,0)		
	<i>n</i>	20	31	
	3 % z ogółu	21,7%	33,7%	
		(0,5)	(-0,5)	
	<i>n</i>	1	4	
	4 % z ogółu	1,1%	4,3%	
		(-0,8)	(0,8)	
N	<i>n</i>	21	41	0,80
	0 % z ogółu	22,8%	44,6%	
		(-0,9)	(0,9)	
	<i>n</i>	8	10	
	1 % z ogółu	8,7%	10,9%	
	(0,7)	(-0,7)		
	<i>n</i>	5	7	
	2 % z ogółu	5,4%	7,6%	
		(0,4)	(-0,4)	
M	<i>n</i>	26	53	3,93*
	0 % z ogółu	28,3%	57,6%	
		(-2,0)	(2,0)	
	<i>n</i>	8	5	
	1 % z ogółu	8,7%	5,4%	
	(2,0)	(-2,0)		

Uwaga. W nawiasach zostały podane skorygowane reszty standaryzowane.*** – $p < 0,001$; ** – $p < 0,010$; * – $p < 0,050$

W ostatnim kroku zweryfikowano związki dla ekspresji nektyny 4. Na podstawie wyników zaprezentowanych w tabeli 21. Stwierdzono istotny statystycznie związek pomiędzy ekspresją nektyny 4 a stopniem złośliwości histologicznej guza. Na podstawie skorygowanych reszt standaryzowanych stwierdzono, że brak ekspresji nektyny 4 był związany z wysokim poziomem złośliwości histologicznej.

Tabela 21. Tabela krzyżowa dla ekspresji nektyny 4 oraz pozostałych zmiennych

			Ekspresja nektyny 4		χ^2
			Brak	Ekspresja	
Lokalizacja	Lewa strona	<i>n</i>	7	54	0,04
		% z ogółu	7,6%	58,7%	
	Prawa strona	<i>n</i>	4	27	
		% z ogółu	4,3%	29,3%	
			(-0,2)	(0,2)	
St. złośliwości histologicznej (gradeing)	Niski	<i>n</i>	7	75	8,38**
		% z ogółu	7,6%	81,5%	
	Wysoki	<i>n</i>	4	6	
		% z ogółu	4,3%	6,5%	
			(-2,9)	(2,9)	
Płeć	Kobieta	<i>n</i>	5	32	0,14
		% z ogółu	5,40%	34,80%	
	Mężczyzna	<i>n</i>	6	49	
		% z ogółu	6,50%	53,30%	
			(0,4)	-0,4	
Palenie	Nie	<i>n</i>	6	50	0,21
		% z ogółu	6,50%	54,30%	
	Tak	<i>n</i>	5	31	
		% z ogółu	5,40%	33,70%	
			-0,5	0,5	
Alkohol	Nie	<i>n</i>	11	75	0,87
		% z ogółu	12,00%	81,50%	
	Tak	<i>n</i>	0	6	
		% z ogółu	0,00%	6,50%	
			0,9	-0,9	
Odbytnica	Nie	<i>n</i>	9	68	0,03
		% z ogółu	9,80%	73,90%	
	Tak	<i>n</i>	2	13	
		% z ogółu	2,20%	14,10%	
			-0,2	0,2	
			0,2	-0,2	

Uwaga. W nawiasach zostały podane skorygowane reszty standaryzowane. *** – $p < 0,001$; ** – $p < 0,010$; * – $p < 0,050$

Na podstawie wyników zaprezentowanych w tabeli 22 nie stwierdzono istotnych statystycznie związków nektyny 4 z cechami T, N i M.

Tabela 22. Tabela krzyżowa dla ekspresji nektyny 4 oraz T, N i M

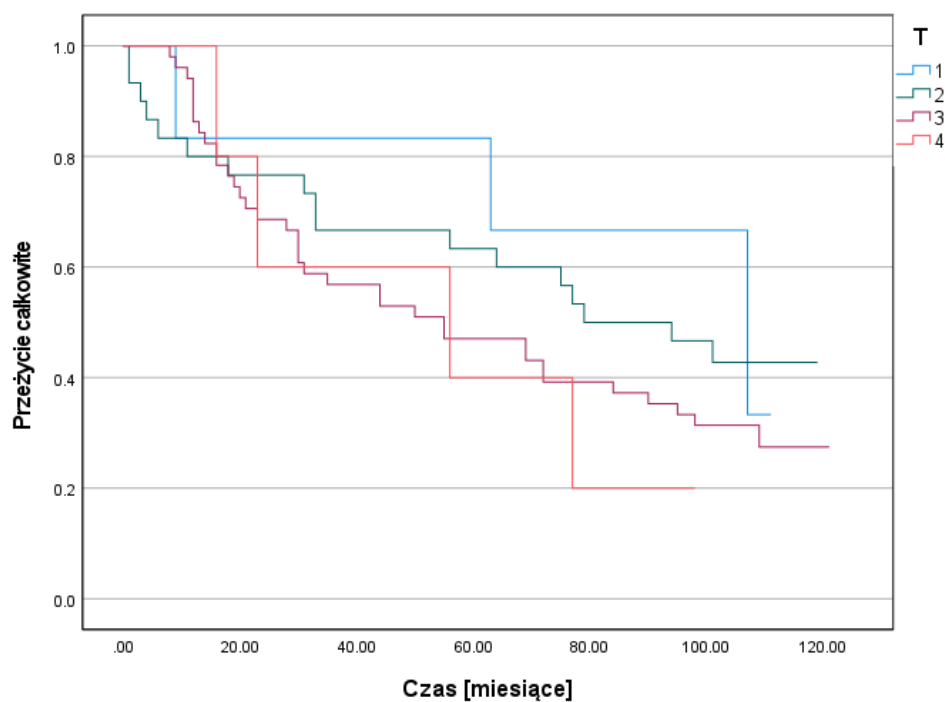
		Ekspresja nektyny 4		χ^2	
		Brak	Ekspresja		
T	1	<i>n</i>	0	6	0,29
		% z ogółu	0,0%	6,5%	
			(-0,9)	(0,9)	
	2	<i>n</i>	6	24	
		% z ogółu	6,5%	26,1%	
			(1,7)	(-1,7)	
	3	<i>n</i>	4	47	
		% z ogółu	4,3%	51,1%	
			(-1,4)	(1,4)	
	4	<i>n</i>	1	4	
		% z ogółu	1,1%	4,3%	
			(0,6)	(-0,6)	
N	0	<i>n</i>	10	52	0,19
		% z ogółu	10,9%	56,5%	
			(1,8)	(-1,8)	
	1	<i>n</i>	1	17	
		% z ogółu	1,1%	18,5%	
			(-0,9)	(0,9)	
2	<i>n</i>	0	12	2,06	
	% z ogółu	0,0%	13,0%		
		(-1,4)	(1,4)		
0	<i>n</i>	11	68		
	% z ogółu	12,0%	73,9%		
		(1,4)	(-1,4)		
1	<i>n</i>	0	13		
	% z ogółu	0,0%	14,1%		
		(-1,4)	(1,4)		

Uwaga. W nawiasach zostały podane skorygowane reszty standaryzowane. *** – $p < 0,001$; ** – $p < 0,010$; * – $p < 0,050$

Analiza przeżycia pacjentów a składowe klasyfikacji TNM

Tabela 23. Wyniki analiz przeżycia dla przedziałów czasowych i cechy T

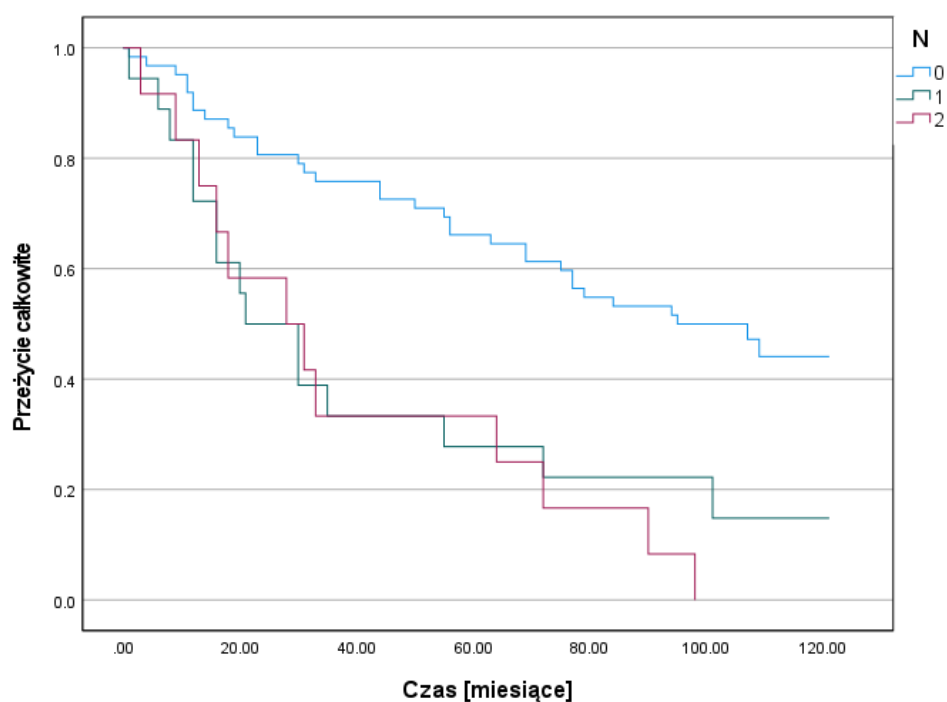
Przeżycie	T	n pacjentów	n zgonów	% przeżycia	M	SE	95% CI		χ^2
							LLCI	ULCI	
5-letnie	1	6	1	83.33%	51.50	7.76	36.29	66.71	3.10
	2	30	11	63.33%	44.60	4.15	36.46	52.74	
	3	51	27	47.06%	41.26	2.87	35.64	46.87	
	4	5	3	40.00%	43.20	8.54	26.46	59.94	
Ogólne	1	6	3	50.00%	84.67	15.45	54.38	114.95	2.60
	2	30	17	43.33%	74.37	8.52	57.67	91.06	
	3	51	36	29.41%	63.31	6.20	51.16	75.47	
	4	5	4	20.00%	54.00	13.96	26.63	81.37	



Rycina 18. Funkcje całkowitego przeżycia dla 4-stopniowego T

Tabela 24. Wyniki analiz przeżycia dla przedziałów czasowych i cechy N

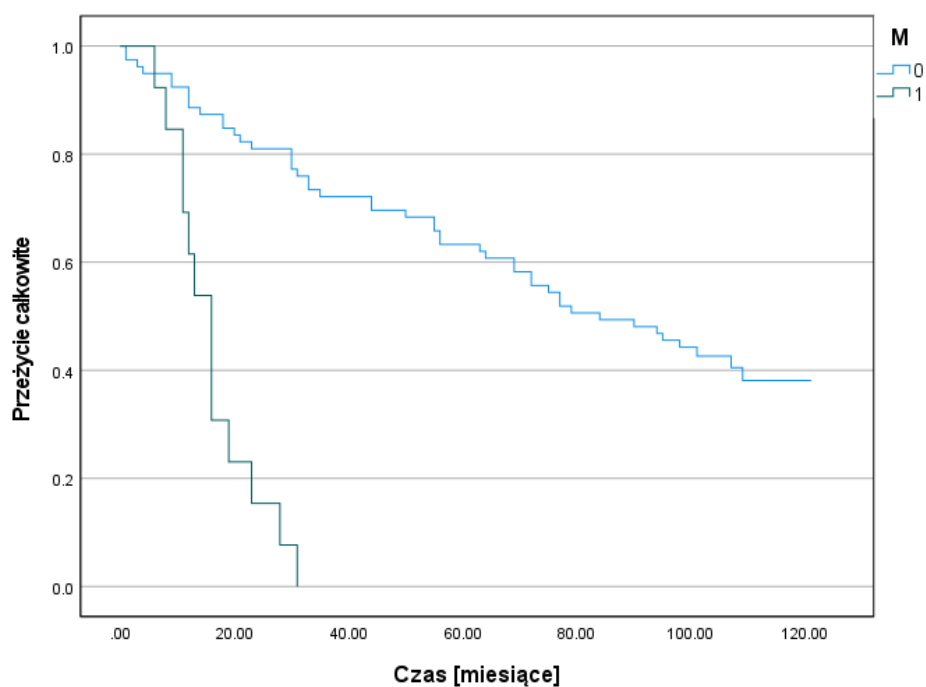
Przeżycie	N	n pacjentów	n zgonów	% przeżycia	M	SE	95% CI		χ
							LLCI	ULCI	
5-letnie	0	62	21	66.13%	48.55	2.40	43.84	53.26	13.60***
	1	18	13	27.78%	31.44	5.10	21.45	41.44	
	2	12	8	33.33%	32.58	6.09	20.66	44.51	
Ogólne	0	62	33	46.77%	81.31	5.51	70.51	92.12	19.36***
	1	18	15	16.67%	43.96	9.77	24.81	63.12	
	2	12	12	0.00%	39.58	9.48	21.01	58.16	



Rycina 19. Funkcje całkowitego przeżycia dla N

Tabela 24. Wyniki analiz przeżycia dla przedziałów czasowych i cechy M

Przeżycie	M	n pacjentów	n zgonów	% przeżycia	M	SE	95% CI		χ
							LLCI	ULCI	
5-letnie	0	79	29	63.29%	47.57	2.19	43.29	51.85	44.82***
	1	13	13	0.00%	16.08	2.06	12.05	20.11	
Ogólne	0	79	47	40.51%	77.21	4.88	67.65	86.77	43.92***
	1	13	13	0.00%	16.15	2.07	12.11	20.20	



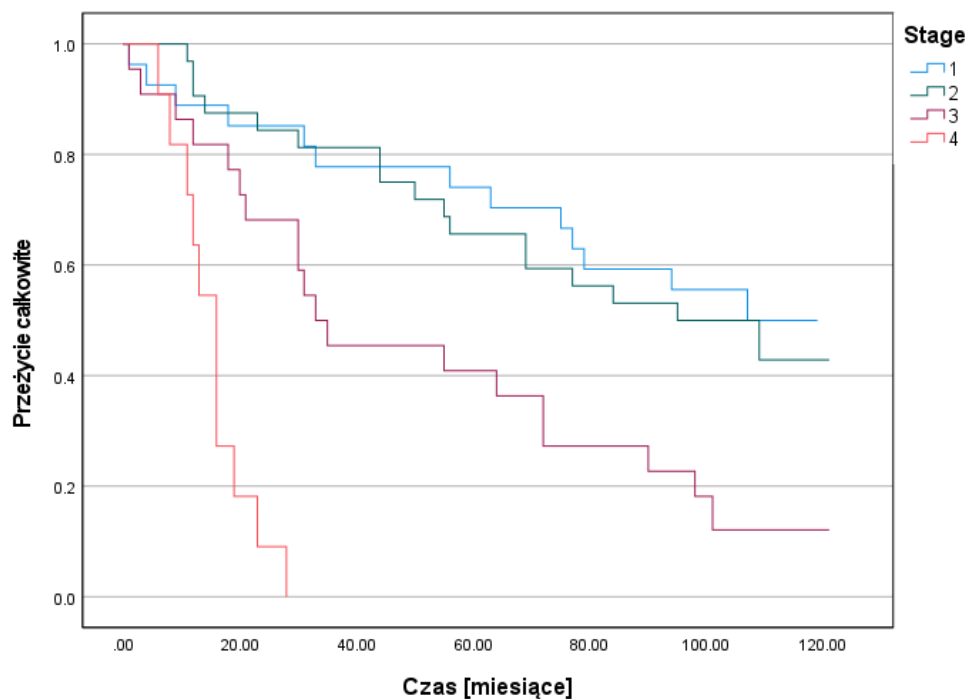
Rycina 20. Funkcje całkowitego przeżycia dla cechy M.

Analiza przeżycia pacjentów w zależności o stopnia zaawansowania RJG

Tabela 25. Wyniki analiz przeżycia dla przedziałów czasowych i stopnia zaawansowania (stage)

Przeżycie	Stage	n pacjentów	n zgonów	% przeżycia	M	SE	95% CI		χ^2
							LLCI	ULCI	
Ogólne	1	27	13	51,85%	85,44	8,08	69,62	101,27	49,23***
	2	32	17	46,88%	82,92	7,29	68,64	97,21	
	3	22	19	13,64%	52,33	8,40	35,86	68,80	
	4	11	11	0,00%	15,27	1,93	11,49	19,06	
5-letnie	1	27	6	77,78%	31,59	1,94	27,79	35,40	47,27***
	2	32	6	81,25%	32,44	1,42	29,66	35,22	
	3	22	12	45,45%	27,36	2,45	22,56	32,16	
	4	11	11	0,00%	15,18	1,91	11,44	18,93	

M – średnia; SD – odchylenie standardowe; LL i UL – dolna i górna granica 95% przedziału ufności, χ^2 – wynik testu *chi*-kwadrat



Rycina 21. Funkcje całkowitego przeżycia w podziale na stopień zaawansowania.

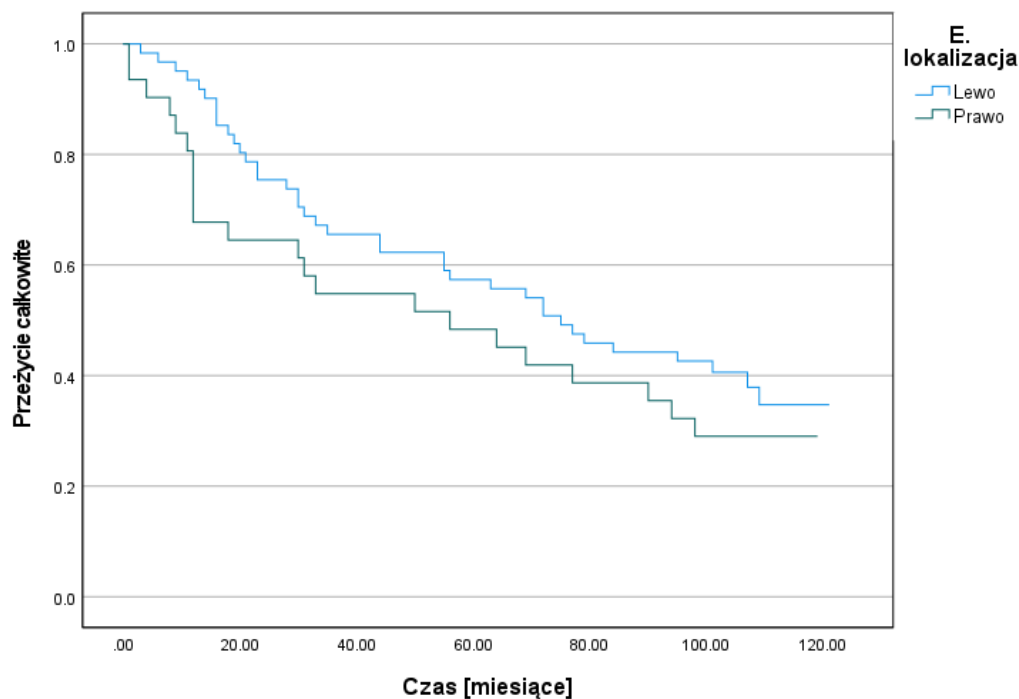
Analiza przeżycia pacjentów w zależności od lokalizacji, wielkości guza i stopnia złośliwości histologicznej

W celu weryfikacji różnic w funkcjach przeżycia, wynikających z lokalizacji guza w prawej lub lewej połowie jelita grubego, z wielkości guza oraz stopnia złośliwości histologicznej, przeprowadzono serię analiz przeżycia z wykresem Kaplan-Meier'a osobno dla ogólnego oraz 5-letniego okresu przeżycia. W tabeli 26. zostały zaprezentowane analizowane częstości, średnie długości przeżycia wraz z odchyleniami standardowymi, 95% przedziałami ufności oraz wynikami testów log-rank. Wynik testu w każdym modelu okazał się nieistotny statystycznie. Oznacza to, że funkcje przeżycia nie różniły się istotnie statystycznie. Wykresy przeżycia zostały zaprezentowane na rycinach 21,22,23.

Tabela 26. Wyniki analiz przeżycia dla przedziałów czasowych i lokalizacji guza w jelicie grubym

Przeżycie	lokalizacja	n pacjentów	N zgonów	%	M	SE	95% CI		χ^2
							LLCI	ULCI	
5-letnie	Strona lewa	61	26	57,38%	45,34	2,51	40,43	50,26	1,26
	Strona prawa	31	16	48,39%	38,74	4,24	30,44	47,05	
Ogólne	Strona lewa	61	38	37,70%	72,62	5,66	61,53	83,72	1,41
	Strona prawa	31	22	29,03%	60,10	8,32	43,78	76,41	

M – średnia; SD – odchylenie standardowe; LL i UL – dolna i górna granica 95% przedziału ufności, χ^2 – wynik testu *chi*-kwadrat

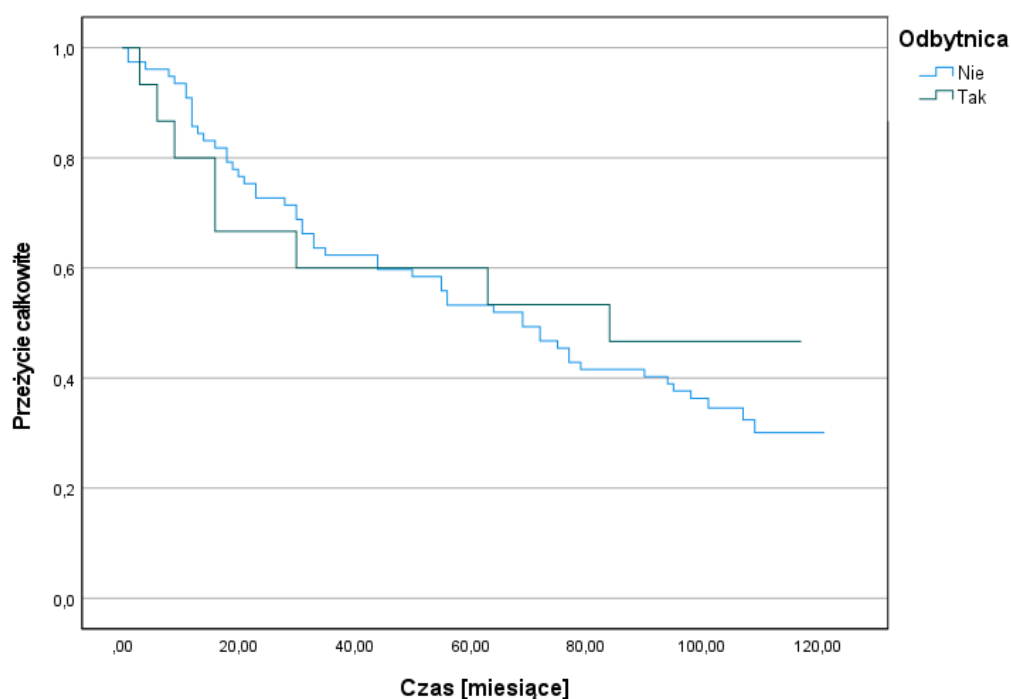


Rycina 22. Funkcje całkowitego przeżycia w zależności od lokalizacji guza w jelicie grubym.

Tabela 27. Wyniki analiz przeżycia dla przedziałów czasowych i lokalizacją guza w odbytnicy

Przeżycie	Odbytница	Liczba pacjentów	Liczba zgonów	% przeżycia	M	SE	95% CI		χ
							LLCI	ULCI	
5-letnie	Nie	77	36	53,25%	43,46	2,37	38,81	48,10	0,04
	Tak	15	6	60,00%	41,40	6,06	29,52	53,28	
Całkowite	Nie	77	52	32,47%	68,00	5,07	58,06	77,94	0,38
	Tak	15	8	46,67%	69,73	12,55	45,13	94,33	

M – średnia; SD – odchylenie standardowe; LL i UL – dolna i górna granica 95% przedziału ufności, χ^2 – wynik testu *chi*-kwadrat

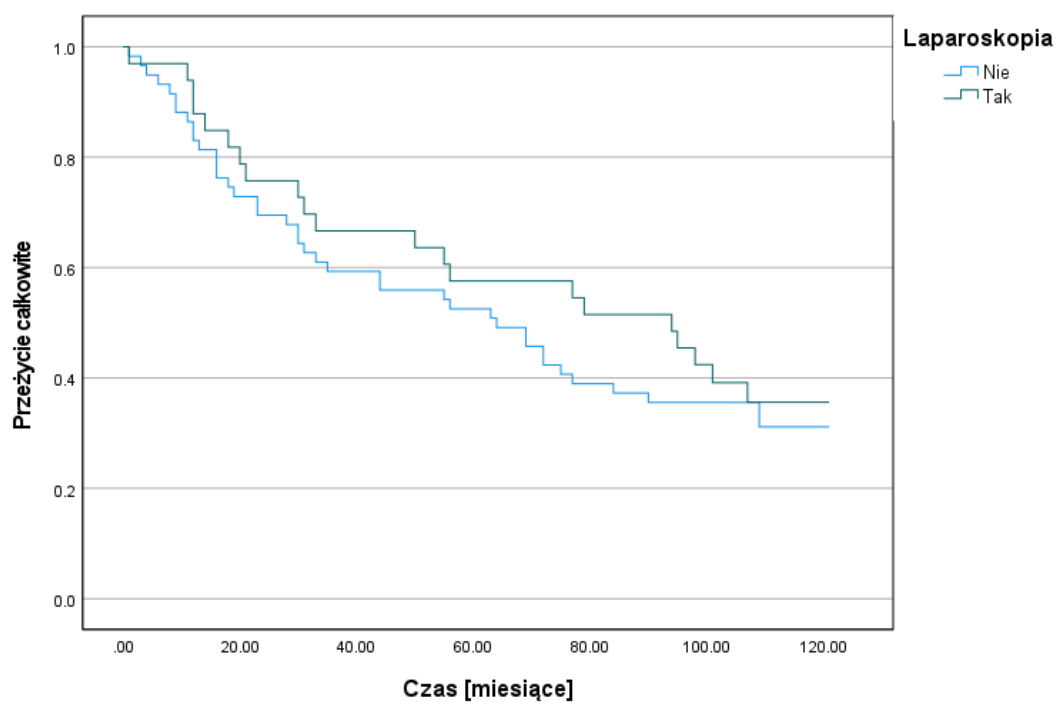


Rycina 23. Funkcje całkowitego przeżycia w podziale na lokalizacje w odbytnicy i w pozostałej części jelita grubego.

Analiza przeżycia w zależności od wykorzystanej techniki operacyjnej

Tabela 28. Wyniki analiz przeżycia dla przedziałów czasowych i techniki operacyjnej (laparoscopia vs. zabieg klasyczny)

Przeżycie	Laparoscopia	Liczba pacjentów	Liczba zgonów	% przeżycia	M	SE	95% CI		χ^2
							LLCI	ULCI	
5-letnie	Nie	59	28	52,54%	41,68	2,83	36,13	47,23	0,38
	Tak	33	14	57,58%	45,70	3,50	38,84	52,55	
Ogólne	Nie	59	39	33,90%	65,25	5,96	53,57	76,92	0,53
	Tak	33	21	36,36%	74,64	7,77	59,41	89,86	



Rycina 24. Funkcje całkowitego przeżycia w podziale na zabiegi laparoskopowe i klasyczne.

Czas przeżycia a pozostałe mierzone zmienne

W celu weryfikacji związków pomiędzy czasem przeżycia (3-letni, 5-letni oraz ogólny okres) a pozostałymi mierzonymi zmiennymi przeprowadzono analizę korelacji ze współczynnikami ρ Spearmana oraz r Pearsona. Na podstawie wyników zaprezentowanych w tabeli X stwierdzono, że czas przeżycia był ujemnie oraz umiarkowanie związany ze stężeniem CEA oraz Ca19-9 w surowicy pacjenta przed zabiegiem. Oznacza to, że wraz ze wzrostem wyników na skalach CEA oraz Ca19-9 malał czas przeżycia pacjentów.

Tabela 28. Współczynniki korelacji czasu przeżycia (okres 5-letni oraz całkowity) oraz pozostałych mierzonych zmiennych

		Przeżywalność 5-letnia	Przeżywalność całkowita
Wielkość guza	r Pearson'a	-0,10	-0,07
	p	0,360	0,493
CEA	r Pearson'a	-0,39**	-0,35**
	p	<0,001	0,001
Ca19-9	r Pearson'a	-0,34*	-0,31*
	p	0,013	0,026
Wiek	r Pearson'a	-0,05	-0,09
	p	0,644	0,420
BMI	r Pearson'a	0,10	0,04
	p	0,334	0,675

W celu weryfikacji wpływu rozmiaru guza na ogólną funkcję przeżycia przeprowadzono analizę przy użyciu regresji Coxa. Model okazał się niewystarczająco dobrze dopasowany do danych, $\chi^2 = 0,21$; $p = 0,648$.

Dyskusja

Dane, na których opiera się ta rozprawa miały głównie charakter archiwalny. W przypadku analizy retrospektywnej, badacz polega na informacjach, których proces zbierania i zapisywania często jest zupełnie niezależny od niego. Ustalenie ram czasowych i dobór grupy badanej podyktowane było dostępnością i jakością informacji do dalszego analizowania. Rok 2013 przyniósł zmiany w sposobie zbierania danych klinicznych w systemie informatycznym szpitala. Typowo używane w analizie okresy przeżyć, czyli 3-, 5- i 10 letnie również dyktowały dobór populacji badanej. Niezbędne do ustalenia potencjalnych właściwości prognostycznych badanych nektyn, było zachowanie minimum 5-letniego okresu od zabiegu operacyjnego. Podjęto decyzję o możliwie długiej perspektywie czasowej, która pozwala na dodatkową analizę statystyczną, jednocześnie nie wykluczając z przyjmowania krótszych interwałów jako mniej podatnych na wpływy czynników zewnętrznych. Liczba przypadków włączonych do badania podyktowana była także ograniczeniami w ilości dostępnych przeciwciał monoklonalnych. Względy finansowe nie pozwalały na rozszerzenie populacji badanej o kolejnych pacjentów.

Obserwowany w grupie badanej odsetek przeżyć 3- i 5-letnich wyniósł odpowiednio 61,96% i 54,35%. Wyniki te można uznać za bardzo zbliżone do danych ogólnopolskich z tamtego okresu (tabela 2.) oraz analiz przeżycia dla wschodniej części Europy^{10,70,72,84,87,95,96}.

Podobnie wyglądają wyniki analizy przeżyć w zależności od składowych systemu TNM i stopnia zaawansowania RJG. W grupach pacjentów z przerzutami węzłowymi i odległymi obserwowano istotnie gorsze wskaźniki przeżyć. Podobnie, funkcje przeżycia wykazywały istotną różnicę w przypadku stopnia zaawansowania RJG. Zgodnie z powszechnie dostępną wiedzą medyczną najważniejszym czynnikiem rokowniczym w raku jelita grubego jest właśnie stopień zaawansowania choroby nowotworowej. Nie obserwowano istotnie statystycznych różnic w przeżyciach związanych z cechą T w naszej grupie badanej. (Tabela 23.). W grupie pacjentów T₁ i T₄ było odpowiednio 6 i 5 pacjentów więc wynik może być mocno ograniczony wielkością próby.

Technika operacyjna to od zawsze popularny temat wielu publikacji naukowych. W populacji badanej 33 pacjentów (35,87%) operowanych było technikami małoinwazyjnymi. Nie wykazano różnicy w 5-letnim i całkowitym przeżyciu w porównaniu z pozostałymi pacjentami operowanymi metodami klasycznymi. Odsetek przeżyć w każdym ocenianym

okresie był nieznacznie wyższy w grupie pacjentów operowanych laparoskopowo. Taki wynik nie jest zaskakujący i odpowiada danym z dużych, prospektywnych badań klinicznych i z meta-analiz, w których pod względem przeżycia nie można wykazać znamiennej statystycznie różnicy lub obserwowana różnica jest na korzyść zabiegów laparoskopowych.^{100–105}

Na podstawie dostępnej literatury nie można jednoznacznie określić uniwersalnych kryteriów ekspresji tkankowej nektyny za pomocą IHC. Autorzy, w zależności od studiowanych tkanek i wybranej metody, zdają się, często w sposób arbitralny, przyjmować założenia dotyczące ekspresji bazowej, właściwej, fizjologicznej lub patologicznej. Stąd też w naszych wynikach można zauważyć kilka różnych sposobów analizowania stopnia ekspresji. Brak wystandaryzowanych narzędzi do oceny ekspresji nektyny w komórkach nowotworowych powoduje, że dyskurs naukowy i porównywanie wyników pomiędzy (mało licznymi) artykułami, staje się jeszcze trudniejszy.

Dalszą część dyskusji zdecydowano podzielić się pomiędzy konkretne nektyny. Pozwoli to w bardziej czytelny sposób przyrzeć się wynikom niniejszego badania oraz odnieść się do dostępnej literatury, która dodatkowo podkreśla złożoną rolę, jaką nektyny odgrywają w raku jelita grubego i nie tylko.

Nektyna 2

W zależności od źródła, nektyna 2 jest wymieniana jako powszechnie występująca lub praktycznie nieobecna w zdrowych tkankach (w tym w jelicie grubym). Wielu autorów zgadza się co do obecności ekspresji nektyny 2 w tkankach układu odpornościowego.^{106–109} Liczne publikacje wskazują na obecną nadekspresję nektyny 2 w nowotworach pochodzenia epitelialnego i w gruczolakorakach – w tym w RJG.^{14,37,49,108,110–113}

W dostępnej literaturze jest bardzo mała liczba publikacji na temat ekspresji nektyny 2 w RJG. Zhang et al. przeprowadzili badanie nad ekspresją nektyny 2 w komórkach RJG oraz jej roli w reakcji cytotoksyczności zależnej od komórek NK. Stwierdzili ekspresję nektyny 2 w 52,4% przebadanych preparatów metodą immunohistochemiczną oraz wyższe stężenie nektyny 2 w surowicy pacjentów z RJG w porównaniu z grupą kontrolną. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy ekspresją nektyny 2 a mierzonymi czynnikami kliniczno-patologicznymi.¹¹⁴ Karabulut et al. oceniali stężenia nektyny 2 w surowicy 140 pacjentów z RJG. Stężenie nektyny 2 miało charakter diagnostyczny (pacjentów chorych na raka porównywano z zdrową grupą kontrolną) i wartość prognostyczną dla pacjentów w stadiach zaawansowania

od I do III - ponieważ wysokie stężenie nektyny 2 w surowicy wiązało się z statystycznie istotnym, krótszym okresem przeżycia bez progresji choroby nowotworowej (mediana 5,8 vs. 9,1 miesiąca, odpowiednio dla grup z wysokim i niskim stężeniem nektyny 2 w surowicy $p = 0.04$). W przytaczanym badaniu nie stwierdzono związku pomiędzy stężeniem nektyny 2 w surowicy a całkowitym przeżyciem w grupie badanej lub odpowiedzią na leczenie adjuwantowe. Autorzy artykułu sugerują, że różnica w bazowym stężeniu nektyny 2 w surowicy pomiędzy pacjentami z RJG a zdrową grupą kontrolną, może wynikać z większej ekspresji tej cząsteczki w obrębie guza, czego jednak nie badali.¹¹⁵ Erturk et al. dokonali oceny stężenia nektyny 2 i 4 w surowicy 74 pacjentów z rakiem płuca.¹¹⁶ W porównaniu do grupy kontrolnej, stężenia obu nektyń było wyższe w grupie pacjentów z rakiem płuca. Dalsza analiza statystyczna potwierdziła wartość diagnostyczną, z przewagą swoistości i czułości w przypadku stężenia nektyny 2. Podobnie jak w przypadku RJG we wcześniej przytaczanych pracach, stężenie nektyny 2 i 4 nie miało związku z ogólnym przeżyciem pacjentów ani z ich odpowiedzią na zastosowaną chemioterapię.

W badanej przeze mnie populacji, nektyna 2, w zależności od przyjętych kryteriów występowała w 25% (kryterium >50% komórek wykazujących ekspresję) lub 58,2% (>1 punkt IRS) przebadanych preparatów. W porównaniu do badania Zhang et al. jest to odpowiednio wynik dwukrotnie mniejszy lub bardzo zbliżony. Nadmienić należy, że porównywanie prezentowanych wyników narażone jest na bardzo duże przekłamanie. W samym raporcie nie ma precyzyjnie określonej metodologii oceny ekspresji – wyłącznie artykuły, którymi inspirował się zespół Zhang'a. Na ich podstawie można uznać chociaż częściową kompatybilność z naszą klasyfikacją – w obu systemach punktowych przypadki kwalifikujące się jako dodatnie musiały spełniać kryterium >50% komórek wykazujących ekspresję lub co najmniej średnio intensywne wybarwienie preparatu.¹¹⁷ Próbę porównywania naszej grupy badanej z grupami pacjentów z rakiem jajnika, piersi i guzami neuroendokrynnymi trzustki, utrudnia jeszcze większa odmienność metodologiczna – Oshima et al. przyjmowali za punkt odcięcia jakąkolwiek zaobserwowaną ekspresję błonową nektyny 2 a Liang et al. jako preparaty dodatnie przyjmowali te w których minimum 25% komórek wykazywało ekspresję (niezależnie od intensywności barwienia).^{106,107} W przyszłości niezbędne jest stworzenie przystępnego systemu immunohistochemicznej oceny ekspresji nektyny 2 w oparciu o ekspresję w zdrowych i nowotworowych tkankach. Ciekawe byłoby wykonanie badania porównujące wynik ekspresji tej samej populacji z wykorzystaniem różnych systemów do

oceny. Dostępne w literaturze interesujące doniesienia o znaczeniu nektyny 2 w chorobie nowotworowej zachęcają do dalszych badań w tym zakresie. Obiecujące wyniki oznaczania stężenia nektyny 2 w surowicy krwi wskazują na kolejny interesujący kierunek przyszłych badań. Czy stężenie nektyny 2 w surowicy koreluje z ekspresją nektyny 2 w guzie pacjenta z RJG? Czy wysokie stężenie nektyny 2 w surowicy mierzone przed zabiegiem zmniejsza się w zależności od radykalności operacji? Są to pytania bez odpowiedzi w dostępnej literaturze.

Nektyna 2 oddziałuje również z komórkami układu odpornościowego poprzez wiązanie się z wieloma receptorami, w tym CD226 (DNAM-1, cząsteczka pomocnicza DNAX-1), TIGIT (T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains) i PVIRG/CD112R.^{118,119} Poprzez interakcję z receptorami limfocytów T CD8+ i komórek NK (natural killer t-cell) może mieć zarówno stymulujący jak i hamujący wpływ na ich aktywność, w tym cytotoksyczność. Początkowo, wysoka ekspresja nektyny 2 może działać stymulująco na proces identyfikacji i lizę komórek nowotworowych z udziałem limfocytów. Obserwowano również mechanizmy przypominające sprzężenie zwrotne w aktywności limfocytów T i komórek NK, które w sytuacji przedłużonej i intensywnej ekspozycji na ligandy stymulatorowe, ulegały stopniowemu zahamowaniu (exhausted phenotype) poprzez regulację w górę receptorów inhibitorowych na swojej powierzchni (checkpoint inhibitory receptors).¹²⁰ Nadekspresja nektyny 2 w nowotworach może w ten sposób wywierać ochronny wpływ na komórki guza poprzez unikanie cytotoksyczności ze strony układu odpornościowego. Z drugiej strony obecne są opinie, że to właśnie obniżona ekspresja nektyny 2 w nowotworze jest mechanizmem ucieczki przed nadzorem immunologicznym organizmu. Huang et al. zaobserwowali obniżoną ekspresję nektyny 2 w rakach wątrobowokomórkowych w porównaniu z otaczającymi je tkankami. Postulowany mechanizm wiąże się z mniejszą stymulacją CD226 na powierzchni komórek NK.¹²¹ Można przyjąć, że spójne obserwacje w tej kwestii zaprezentował, wspomniany wcześniej zespół Zhang et al. - wykorzystanie przeciwciał skierowanych przeciwko nektynie 2, doprowadziło do znacznego zahamowania cytotoksyczności komórek NK wobec komórek raka okrężnicy.¹¹⁴ Lepiej reprezentowane, w literaturze dotyczącej nektyny 2, są raki jajnika i piersi. W badaniu immunohistochemicznym przeprowadzonym przez Oshima et al. stwierdzono nadekspresję nektyny 2 w ponad 80% preparatach raka piersi i około 50% preparatach raka jajnika. Dalsze eksperymenty z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych przeciwko nektynie 2 wykazały supresję proliferacji w nowotworowych liniach komórkowych raka piersi i jajnika.¹⁰⁶ Autorzy badania wskazują też wpływ VEGF na nadekspresję nektyny 2 w

komórkach guzów, na obniżoną ekspresję w komórkach śródbłonka naczyń i na zaburzenia w przepuszczalności ściany naczyń co sprzyja otrzewnowemu rozsiewowi raka jajnika i predysponuje do wodobrzusza.^{106,108}

Immunoterapia w leczeniu chorób nowotworowych to rozwijająca się dziedzina nastawiona na wspomaganie własnego układu odpornościowego pacjenta w walce z nowotworem.^{120,122} W badaniach *in vitro* wykazywano, że połączenie blokady TIGIT i PVIRG zwiększa aktywność limfocytów T przeciwko komórkom nowotworowym.¹²³ Badania nad nektyną 2 w nowotworach wydają się być rozwojowym kierunkiem badań, także ze względu na jej udział w regulacji odpowiedzi immunologicznej na chorobę nowotworową. Jeszcze raz warto podkreślić, że rzetelna analiza ekspresji, pozwalająca na powtarzalną i porównywalną analizę wyników, stanowi podstawę do rozwoju nauki na tym obszarze. Warto również wspomnieć o roli nektyny 2 jaką odgrywa w funkcjonowaniu śródbłonka naczyń krwionośnych – poprzez reakcje z nektyną 3 (jedyną nektyną obecną na powierzchni limfocytów T) reguluje proces przepuszczalności śródbłonka i ekstrawazacji limfocytów.¹²⁴ Stanowi to ciekawy element w dyskusji o inwazyjności i zdolności do przerzutowania nowotworów. Na przykładzie pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym przełyku wykazano związek pomiędzy podwyższoną ekspresją nektyny 2 a stopniem zaawansowania choroby nowotworowej i stopniem zróżnicowania komórkowego (pacjenci z wyższą ekspresją nektyny 2 mieli statystycznie wyższy stopień zaawansowania i mniej zróżnicowane nowotwory). Dodatkowo, Li et al. wykazali w badaniu *in vitro*, na nowotworowych liniach komórkowych, że po zastosowaniu krótkich interferujących RNA przeciwko nektynie 2 (wyciszenie ekspresji genów kodujących nektynę 2) zmniejsza się istotnie zdolność do inwazji i migracji komórek raka płaskonabłonkowego przełyku.¹²⁵ Badanie Liang et al. sugeruje, że nektyna 2 jest zaangażowana w progresję gruczolaka przewodowego trzustki. Dodatnia ekspresja nektyny 2 wiązała się ze statystycznie krótszym przeżyciem i złym rokowaniem u pacjentów.¹⁰⁷

Z wykonanej w ramach tej pracy analizy wynika, że występuje duża heterogeniczność w ekspresji nektyny 2 w tkankach RJG. Na przykładzie klasyfikacji IRS, u 41,8% pacjentów nie stwierdzono ekspresji nektyny 2 w badaniu IHC. Pomimo widocznego trendu w ogólnym czasie przeżycia (większa średnia przeżytych miesięcy) w grupie cechującej się brakiem nektyny 2, nie uzyskano statystycznie istotnej różnicy w całkowitym czasie przeżycia pomiędzy tymi grupami (tabele 11-14). Czynnikiem ograniczającym dla naszej analizy jest na pewno wielkość próby badanej i ocena pojedynczych preparatów wykonanych z guzów. Heterogeniczność guza

i różnice międzypersonalne mogą być odzwierciedlone w zróżnicowanej ekspresji białek w obrębie guza. Badanie więcej niż jednego preparatu pobranego z kilku obszarów guza i uśrednianie wyników lub łączenie metod IHC z oceną ekspresji mRNA mogłoby poprawić precyzyjną ocenę ekspresji nektyń.

Zaskakującym wynikiem była korelacja pomiędzy ekspresją nektyny 2 a lokalizacją guza. Obecność ekspresji nektyny 2 korelowała dodatnio z proksymalną lokalizacją RJG. Zgodnie z dostępną literaturą, nowotwory prawej połowy jelita grubego wiążą się z gorszym rokowaniem.^{57,126,127} W niniejszym badaniu nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w całkowitym przeżyciu pomiędzy grupami pacjentów z nowotworem prawej i lewej połowy jelita grubego (Tabela 26.). Na taki wynik może mieć wpływ również zbyt mała próba badana. Bazując na aktualnej wiedzy dotyczącej obserwowanych różnic profilu molekularnego pomiędzy rakami prawej i lewej połowy jelita grubego wydaje się interesującym fakt, że ekspresja nektyny 2 różni się pomiędzy tymi lokalizacjami.¹²⁸ Zgodnie z moją wiedzą, do tej pory nie powstała żadna praca naukowa obejmująca kwestię ekspresji nektyń w zależności od lokalizacji RJG. W analizie korelacji ekspresji nektyny 2 z pozostałymi mierzonymi czynnikami kliniczno-patologicznymi nie było znamiennej statystycznych wyników.

W niniejszej pracy wykazaliśmy dużą niejednorodność w ekspresji nektyny 2 w komórkach RJG. Z punktu widzenia statystycznego, dodatnia ekspresja nektyny 2 jest bardziej prawdopodobna w guzach prawej połowy jelita grubego. Na przykładzie omawianej populacji badanej nie stwierdzono związku między wskaźnikami przeżycia pacjentów a ekspresją nektyny 2. Na wynik nie miało wpływu przyjęcie różnych sposobów klasyfikacji ekspresji. Niemniej jednak rola nektyny 2 w RJG wydaje się być słabo zrozumiana. Na podstawie cytowanej literatury można przyjąć, że nektyna 2 bierze udział w regulacji przeciwnowotworowej odpowiedzi układu odpornościowego oraz zaangażowana jest procesy takie jak inwazyjność i zdolność do przerzutowania komórek nowotworowych. Wskazane jest dalsze badanie właściwości diagnostycznych i prognostycznych nektyny 2 w RJG i nie tylko.

Nektyna 3

Nektyna 3 (znana również jako CD113 i PVRL-3) obecna jest w zdrowych, dojrzałych tkankach ludzkich (również przewodu pokarmowego), występuje na powierzchni limfocytów T oraz odgrywa rolę w organogenezie narządów takich jak oko i kora mózgowa. Cechuje się najszerzą zdolnością interakcji z pozostałymi nektynami i cząsteczkami podobnymi do

nektyn.^{37,49,109,129} Wspólnie z nektyną 2 bierze udział w procesie migracji limfocytów T przez ścianę naczyń krwionośnych do drugorzędowych narządów limfatycznych lub otaczających tkanek. Proces ekstrawazacji limfocytów przypomina proces migracji i inwazyjności komórek nowotworowych i może tłumaczyć w niektórych przypadkach związek pomiędzy obecnością nektyn a nabywanymi właściwościami przez komórki raka.¹²⁴ Ponad 90% komórek raka okrężnicy z niestabilnością mikrosatelitarną (MSI) posiada mutację genu receptora transformującego czynnika wzrostu beta typu II (*TGFBR2*). Lee et al. donoszą, że rekonstrukcja *TGFBR2* w linii komórkowej raka jelita grubego HCT116, doprowadziła do zwiększonej sialilacji nektyny 3. Nie wpłynęło to na obserwowalną zmianę w jej syntezie i ekspresji w badanych komórkach.¹³⁰ Glikozylacja białek ma jednak wpływ na ich właściwości biochemiczne i funkcje co udowodnione jest w licznych badaniach nad glikobiologią chorób nowotworowych.¹³¹

Dotychczas nie ma dostępnych badań nad klinicznym wykorzystaniem oceny ekspresji nektyny 3 w RJG. Powyżej przytaczane badanie Lee et al. jest jedynym związanym z szeroko pojętym tematem nektyny 3 i nowotworów jelita grubego. Z dostępnej literatury wynika, że obserwowana jest podwyższona ekspresja nektyny 3 m. in. w nowotworach płuc (gruczolakorakach), jajnika i nosogardła.¹³⁰

Nektyna 3 w warunkach fizjologicznych obecna jest na powierzchni komórek błony śluzowej jelita grubego. Z badań nad *C. difficile* wiemy, że jest także obligatoryjnym receptorem dla toksyny B (TcdB). W przypadku gdy komórki jelita grubego pozbawione są ekspresji nektyny 3 lub obecna nektyna 3 ulegnie blokadzie za pośrednictwem specyficznych przeciwciał, nie obserwuje się objawów związanych z toksycznością TcdB.¹³²

Maniwa et al. opublikowali badanie, w którym oceniono ekspresję nektyny 3 w gruczolakorakach płuc. Nektyna 3 w warunkach fizjologicznych nie jest obecna w płucach. Stwierdzenie ekspresji w grupie badanej wiązało się ze złym rokowaniem. Co zaskakujące, pacjenci, u których wykazano ekspresję nektyny 3 wraz z jednoczesnym występowaniem e-kadheryny (obie cząsteczki wykazujące charakter błonowy ekspresji) mieli lepsze wskaźnik całkowitego przeżycia niż w przypadkach, kiedy ekspresję nektyny identyfikowano oddzielnie.¹³³ Nektyna 3, która nie spełnia swojej funkcji w postaci rekrutacji E-kadheryny do tworzenia połączeń zwierających może mieć związek ze zwiększoną złośliwością nowotworu. W badaniu przeprowadzonym przez Xu et al. wykazano, że nadekspresja Nektyny-3 w raku jajnika wiąże z gorszym rokowaniem. Autorzy ponadto wskazują, że nadekspresja Nektyny-3 współwystępuje ze zwiększoną ilością i aktywnością metaloproteinaz macierzy 1 i 2 (MMP 1 i 2). Prowadzą one

do dezintegracji struktury macierzy zewnątrzkomórkowej i zwiększonej migracji i inwazyjności komórek raka jajnika.¹³⁴

W raku nosogardła nektyna 3 również jest traktowana jako onkogen i wiąże się z bardziej agresywnym charakterem guza. Zaobserwowano, że gen *ZNF582*, kodujący transkrypcyjne białko regulatorowe (zinc finger protein 582), często ulega wyciszeniu w wyniku hipermetylacji w komórkach raka nosogardła. Produkt *ZNF582* odpowiada bezpośrednio za regulację transkrypcji genów kodujących nektynę 3 i neureksynę 3 (oba białka należą do rodziny cząsteczek adhezyjnych). W przypadku opisywanej hipermetylacji dochodzi do zaburzenia ekspresji obu białek i nadekspresji i regulacji w dół odpowiednio nektyny 3 i neureksyny 3. Przywrócenie funkcji *ZNF582* w komórkach raka nosogardła wiązało się ze zmniejszeniem adhezji komórkowej, migracji i inwazyjności w liniach komórkowych raka nosogardła.¹³⁵

Prace przytoczone powyżej jednoznacznie wskazują związek między ekspresją nektyny 3 a fenotypem guza o gorszym rokowaniu. Badania te traktują o guzach tkanek, które w warunkach normalnych wykazują niewielką lub wcale nie wykazują ekspresji nektyny 3.

Tymczasem obserwuje się obniżoną ekspresję nektyny 3 w gruczolakorakach i guzach neuroendokrynych trzustki oraz w raku piersi. W tych przypadkach, utrata ekspresji nektyny-3 wiąże się z wyższą złośliwością i gorszym rokowaniem dla pacjentów. Martin et al. wykazali zmniejszenie ruchliwości i inwazyjności komórek raka piersi po wyindukowaniu nadekspresji nektyny 3 poprzez wektor wirusowy. Zmierzony opór stawiany przez utworzone za pośrednictwem nektyny 3 połączenia ściśle był większy. Nektyna 3 zdaje się odgrywać kluczową rolę w tworzeniu połączeń komórkowych i stanowi przypuszczalną cząsteczką supresorową w raku piersi.¹¹²

Podobnych obserwacji dokonali Hirabayashi et al. w swoich badaniach nad ekspresją nektyny 3 w guzach neuroendokrynych trzustki (PanNET). Utrata ekspresji nektyny 3 w PanNET była związana z cechami klinicznymi o negatywnym rokowaniu - większym rozmiarem guza i jego naciekaniem (T), obecnością przerzutów do węzłów (N) i narządów (M), wyższym wskaźnikiem *Ki-67*, wyższą złośliwością histologiczną, nieczynnym hormonalnie guzem i krótszym okresem przeżycia bez progresji choroby. Autorzy przypuszczają, że wyższe tempo proliferacji komórek może być promowane przez przerwanie interakcji trans między nektyną 3 i białkiem podobnym do nektyny 5.^{43,50} W przypadku gruczolakoraków trzustki doniesienia dotyczące ekspresji nektyny 3 są tożsame z wcześniej cytowanymi badaniami, w których

rozproszona ekspresja w komórkach nowotworowych była związana z korzystniejszym rokowaniem dla pacjentów.¹³⁶

Zaobserwowano, że w przypadku pacjentów z RJG w prezentowanym badaniu, to właśnie utrata ekspresji lub jej obniżenie wiąże się z gorszym rokowaniem. W warunkach fizjologicznych, w zdrowych komórkach błony śluzowej jelita grubego obserwuje się ekspresję nektyny 3.^{14,37,49,109,113,137} Wyniki omawianego badania sugerują, że utrata ekspresji nektyny 3 wiąże się z statystycznie krótszym okresem przeżycia. Porównując grupy pacjentów wyodrębnione na zasadzie „brak ekspresji vs. obecna ekspresja” różnica w przeżyciu (w każdym analizowanym okresie) jest jeszcze bardziej zaznaczona i istotna z punktu widzenia statystycznego (tabele 13 i 14).

Należy tutaj podkreślić po raz kolejny trudności związane z brakiem jednorodności autorów dostępnych publikacji w zakresie metodologii badań immunohistochemicznych. Na podstawie opisów badań Hirabayashi oraz Izumi et al. można wnioskować, że czynnikiem decydującym był jedynie odsetek komórek prezentujących antygen i w obu przypadkach, z niewielkimi odmiennosciami, preparaty z więcej niż połową komórek „dodatnich” były klasyfikowane w grupach o „wysokiej” lub „dodatniej” ekspresji.^{50,136}

W przeprowadzonej analizie korelacji wykazano m. in. związek pomiędzy ekspresją nektyny 3 a wielkością guza nowotworowego i stężeniem CEA przed wykonanym zabiegiem operacyjnym. Wraz z obserwowanym w grupie badanej wzrostem wymiaru guza i stężeniem CEA, ekspresja nektyny 3 malała. Istotnie statystyczny był również związek między stopniem zaawansowania a ekspresją nektyny 3, której spadek towarzyszył wyższym stopniom zaawansowania RJG. Spadek ekspresji nektyny 3 ma cechy markera progresji RJG. Wielkość guza i stężenie CEA przed zabiegiem stanowią w literaturze niezależne czynniki prognostyczne u pacjentów RJG.^{88,138–143} Wykazane w niniejszej rozprawie umiarkowane, ujemne korelacje wielkości guza, stężenia CEA i stopnia zaawansowania z ekspresją nektyny 3, uzupełniają szerszą perspektywę nakreśloną przez funkcję przeżycia pacjentów z niską lub zerową ekspresją nektyny 3, którzy statystycznie mieli gorsze wskaźniki przeżycia.

Nie obserwowaliśmy korelacji pomiędzy stopniem ekspresji nektyny 3 a składowymi systemu TNM tak jak to miało miejsce w przytaczanych badaniach Hirabayashi et al. o guzach neuroendokrynnych trzustki. Odmienne obserwacje mogą wynikać chociażby z innego charakteru nowotworu. Nie ma dostępnych prac pozwalających na porównanie otrzymanych przez nas wyników z grupami pacjentów chorujących na RJG.

Dostępna literatura dotycząca nektyny 3 w chorobach nowotworowych nie jest spójna. Rola nektyny 3 w procesach związanych z progresją choroby nowotworowej, jak inwazja, tworzenie przerzutów i rokowanie, zdaje się być różna w zależności od typu histologicznego i pochodzenia nowotworu. Warto rozważyć poszerzenie zakresu badań nad znaczeniem nektyny 3 w RJG. Ciekawą koncepcją zdaje się porównanie właściwości komórek nowotworowych z wyindukowaną nadekspresją nektyny 3 i po utracie ekspresji nektyny 3 (np. przy użyciu specyficznych siRNA). Z czego wynika tak różny związek pomiędzy ekspresją nektyny 3 a rokowaniem w innych nowotworach? Czy rekonstrukcja utraconej ekspresji nektyny 3 wpłynie na zahamowanie rozwoju RJG w modelu komórkowym? Na te pytania powinny odpowiedzieć przyszłe badania nad nektyną 3.

Nektyna 4

Znana również jako PVRL-4 i PRR-4, jest prawdopodobnie najszerzej badany i opisywany członkiem tej rodziny białek adhezyjnych. Dostępne są liczne publikacje o jej roli w organizmie człowieka – zarówno w fizjologii i w chorobach. Nektyna 4 ma słabą ekspresję lub jest niemal nieobecna w dorosłych tkankach w warunkach prawidłowych.^{113,129,144} Nektyna 4 pełni istotną rolę w trakcie okresu embrionalnego, bierze udział w organogenezie. Poza łożyskiem, gardłem, pęcherzem moczowym, gruczołami piersiowymi, gruczołami ślinowymi (przewodami) i skórą (naskórek i gruczoły potowe) praktycznie występuje w dojrzałych ludzkich tkankach.^{14,49,113,145} Znaczenie Nektyny-4 podczas rozwoju zarodkowego można zilustrować przykładem dysplazji ektodermalnej z syndaktylią, która związana jest z mutacjami zmiany sensu genu *PVLR4* – kodującego wspomnianą nektynę 4.

Dysponujemy licznymi raportami, które wskazują, że nektyna 4 ulega nadekspresji w różnych typach nowotworów – np. jelita grubego, żołądka, przełyku, raku piersi, raku jajnika, raku wątrobowokórkowym, niedrobnokomórkowym raku płuca i raku urotelialnym, raku brodawkowatym tarczycy i nerki^{15,116,146–151} Rola nektyny 4 jako onkogenu w tych chorobach jest intensywnie badana, a niektóre wyniki tych badań znajdują zastosowanie w praktyce klinicznej

Nektyna 4 została zidentyfikowana jako biomarker nowotworowych komórek macierzystych – cancer stem cells (CSC). Uznaje się, że nabywana oporność komórek nowotworowych na konwencjonalnie stosowane chemioterapeutyki może być związana z

właściwościami CSC. Rozwój nauki nad CSC wydaje się kluczowy w kwestii lepszego zrozumienia procesów inicjacji i progresji choroby nowotworowej, poznania mechanizmów oporności na leczenie oraz przyczyn nawrotów m. in raka jelita grubego.¹⁵²⁻¹⁵⁴ Siddharth et al. twierdzą, że nektyna 4 jest biomarkerem CSC w modelu komórkowym raka piersi. Delecja genu kodującego nektynę 4 prowadziła do inhibicji procesów przejścia EMT/MET, hamowała kaskadę sygnalizacyjną WNT/B-kateniny i wstrzymywała wzrost niezależny od macierzy zewnątrzkomórkowej (anchorage-independent growth).¹⁵⁵ Uważa się, że zdolność do samoregeneracji CSC indukowana przez ekspresję nektynę 4 jest odpowiedzialna za regulację EMT-MET i agresywny charakter nowotworu.

Komórki raka jelita grubego w badaniu *in vitro* inkubowane w obecności 5-fluorouracylu (jednego z głównych leków w chemioterapii RJG na całym świecie) zwiększyły endogenną ekspresję nektyny 4. Co więcej, obserwowana w badaniu wrażliwość na działanie 5-FU była odwrotnie proporcjonalna stopnia ekspresji nektyny 4 w badaniach na liniach komórkowych RJG. W związku z tym, postuluje się, że nektyna 4 jest jednym z czynników związanych z opornością na 5-FU w RJG. Interakcje pomiędzy nektyną 4 a afadyną i późniejsza indukcja wzrostu komórek, napędzana przez oś Pi3k/Akt jest przypuszczalnie odpowiedzialna za oporności na terapię 5-FU w RJG. Połączenie 1,3-Bis(2-chloroetyl)-1-nitromocznika (BCNU) i resweratrolu (antyoksydant pochodzenia roślinnego) indukowało apoptozę w komórkach raka jelita grubego opornych na 5-FU przy obserwowalnym zmniejszeniu ekspresji nektyny 4.¹⁵⁶

Na podstawie dostępnej literatury można zaryzykować stwierdzenie, że nektyna 4 została powiązana z każdym etapem choroby nowotworowej – od inicjacji do stadium uogólnionego rozsiewu. Liczne badania wskazują na silną dodatnią korelację pomiędzy stopniem ekspresji nektyny 4 a zaawansowaniem procesu nowotworowego i gorszym rokowaniem.^{111,116,148,151,155,157-161} Większą ekspresję nektyny 4 obserwowano w nowotworach nawrotowych.¹⁴⁵

W badanej przez nas populacji nektyna 4 występowała najczęściej spośród wybranych nektyń. Zaobserwowano 68,13 % „dodatnich” preparatów przyjmując klasyfikację zależną od odsetka komórek wykazujących ekspresję (≥ 50 %) lub aż 87,9 % uwzględniając klasyfikację IRS. W porównaniu z dostępną literaturą są to wyższe odsetki niż raportowane przez pozostałych badaczy. W badaniu przeprowadzonym przez Challita-Eid et al. oceniano ekspresję nektyny 4 w 2394 przypadkach wybranych nowotworów.¹⁵ Biorąc pod uwagę

różnice w metodzie oceny ekspresji nektyny (H-score vs. IRS), można przyjąć założenie, że punkt odcięcia dla wykrycia ekspresji nektyny 4 w obu badaniach będzie zbliżony. W granicznych przypadkach mówimy o co najmniej 15% komórek wykazujących słabą intensywność barwienia i co najmniej 10% komórek wykazujących słabą intensywność barwienia odpowiednio dla H-score i IRS. Podobnie w przypadku detekcji silnej intensywności barwienia, konieczny odsetek komórek dla H-score to 4% i <10% dla IRS. We wspomnianym badaniu stwierdzono największy odsetek dodatnich preparatów w grupie raka pęcherza – 83 % a najmniejszy w rakach płuca i przetyku – 55%. Pośród studiowanych nowotworów nie było przypadków RJG. Uwzględniając uzyskane przez nas wyniki należy uznać, że odsetek guzów ekspresją nektyny 4 w RJG jest co najmniej porównywalny z analizowanymi przez Challita-Eid et al. nowotworami. Moretto et al. wykorzystali preparaty pacjentów z rozpoznanym rozsianym RJG z badania TRIBE2 do zbadania ekspresji nektyny 4 i jej związku z obserwowanymi cechami klinicznymi i demograficznymi.¹⁶² Autorzy zwracają uwagę na różnorodność ekspresji nektyny 4 i podkreślają, że ewentualne stosowanie terapii celowanej powinno być poprzedzone badaniem w kierunku ekspresji nektyny 4. Przyjęta interpretacja wyniku H-score przez autorów sprawia trudność w porównaniu wyników z naszym badaniem.

Interesującym zjawiskiem związanym z nektyną 4 jest mimikra naczyniowa (VM – vasculogenic mimicry) będąca odmiennym modelem nowotworowej angiogenezy. VM polega na tworzeniu mikrokrążenia poprzez kanały wyściełane przez komórki inne niż śródbłonek. Kanały w VM są tworzone poprzez pluripotencjalne embrionalne komórki macierzyste, wysoce inwazyjne komórki nowotworowe oraz macierz zewnątrzkomórkową w agresywnych guzach pierwotnych i przerzutowych. Wytworzone kanały zapewniają odpowiednie ukrwienie dla dynamicznie rosnących komórek nowotworowych.^{163,164}

Zhang et al. opisali silny związek między ekspresją mRNA nektyny 4, przerzutami i zaawansowanym stadium choroby u pacjentów z RJG. W badaniu wykryto ekspresję w 70,6% pośród 68 preparatów. Uzyskane wyniki porównano z danymi 372 przypadków RJG znajdującymi się w The Cancer Genome Atlas Program (TCGA). Ekspresja mRNA korelowała z wynikami kohorty pacjentów poddanej badaniom IHC w kierunku ekspresji nektyny 4. W przypadku badań IHC nie stwierdzono statystycznego związku pomiędzy ekspresją nektyny a przerzutami raka w węzłach chłonnych, tak jak miało to miejsce przy analizie bazy genetycznej. Badacze zaobserwowali również związek między obecnością VM, nektyny 4 i integryny-β1 (ITGB1). Ponadto, wspólna obecność nektyny 4, ITGB1 i VM korelowały dodatnio z cechą N, M

i stopniem zaawansowania RJG. Wszystkie korelujące czynniki w przytoczonym badaniu, mają właściwości prognostyczne w RJG.¹⁴⁹ Do oceny ekspresji wykorzystano, podobnie jak w niniejszym badaniu, klasyfikację IRS jednak interpretacja wyników różniła się od naszej, ponieważ przyjęto, że każdy wynik $IRS \geq 1$ świadczy o obecności ekspresji nektyny 4. W obu grupach nie stwierdzono związku między ekspresją nektyny 4 i cechą T. Podobnie w naszej grupie pacjentów nie wykazano takiego związku. Może to mieć związek m.in. z ogólną konstrukcją klasyfikacji TNM i oczywiście z metodologią oceny ekspresji nektyn.

W warunkach niedotlenienia dochodzi do rozdzielenia nektyny 4 za pomocą konwertazy czynnika martwicy nowotworów alfa (TACE) na podjednostki składające się z domen wewnętrznej i zewnętrznej.¹⁶⁵ Siddharth et al. zbadali rolę rozpuszczalnej zewnętrznej domeny nektyny 4 w mikrośrodowisku guza. Stwierdzili, że poprzez bezpośrednią interakcję z integryną- $\beta 4$ śródbłonna naczyń, aktywując kaskadę Src/PI3K/Akt/iNOS, pobudza tworzenie naczyń włosowatych.¹⁶⁶ Chatterjee et al. dostarczyli eksperymentalnych dowodów na to, że dochodzi do przemieszczenia domeny wewnętrznej nektyny 4 za pomocą importyny- α (karioferyny- $\alpha 2$) do jądra komórkowego. Nagromadzenie wewnętrznej domeny nektyny 4 w jądrze aktywuje naprawę DNA i nasila proliferację komórek. Ponadto wykazano, że nanokrystaliczna postać mepakryny hamuje działanie obu rozdzielonych domen nektyny 4 w testach in vitro.¹⁶⁷ W badaniach doświadczalnych zaobserwowano również zahamowanie procesu naprawy DNA związanej z nektyną 4 poprzez kurkuminę i weliparyb (inhibitor aPARP) – obie substancje wykazują działanie antyangiogenne in vitro.¹⁶⁸ Zarówno nektyna 4 jak i TACE zdają się być obiecującymi celami dla nowych terapii przeciwnowotworowych.

Kedashiro et al. donieśli, że nektyna 4 i p95-ErbB2 (jeden z wariantów splicingu receptora HER2 opornego na trastuzumab) wspólnie aktywowały zależną od sygnalizacji Hippo ekspresję genu SOX2 w komórkach raka piersi T47D, hodowanych w formie zawiesiny bez podłoża. To kolejny dowód na to, że nektyna 4 zwiększa proliferację komórek w sposób niezależny od zakotwiczenia w macierzy.^{169,170} Wykazano również, że oś sygnalizacyjna SOX2- β -katenina/Beclin1/autofagia-apoptoza zwiększa chemooporność, indukuje przejście epitelialno-mezenchymalne i jest odpowiedzialna za właściwości CSC w komórkach RJG.¹⁷¹

Przetrwanie z dala od macierzy zewnątrzkomórkowej i zdolność do namnażania się we krwi jest jedną z kluczowych cech komórek nowotworowych zdolnych do przerzutowania. Skupiska krążących komórek nowotworowych zidentyfikowano również w próbkach krwi pacjentów z rakiem jelita grubego.¹⁷² Potencjalny udział nektyny 4 we wspomnianych

powyżej procesach nie zostały jednoznacznie wyjaśnione w badaniach na liniach komórkowych RJG.

Z badań przeprowadzonych przez Sathy et al. na próbkach pobranych od pacjentek z rakiem piersi wynika, że nektyna 4 odgrywa dominującą rolę w promowaniu indukowanej przez nowotwór limfangiogenezy poprzez zwiększanie gęstości naczyń limfatycznych (LVD - lymphatic vessel density) i aktywację osi chemokin (CXCR4/CXCL12).¹⁵⁹ Wymieniane mechanizmy badano również w innych typach nowotworów – np. raku trzustki.¹⁷³ Ponadto, LVD w tkankach otaczających guz wiąże się z występowaniem nawrotów miejscowych i krótszym czasem przeżycia bez progresji choroby wśród pacjentów z RJG.¹⁷⁴ To, czy Nektyna-4 indukuje limfangiogenezę w raku jelita grubego, jest interesującym tematem dla przyszłych badań.

Zaobserwowaliśmy więcej interesujących wyników podczas analizy przeżycia pacjentów. Wykazano istotne różnice w przeżyciach dla okresów 5-letniego i całkowitego w zależności od stopnia ekspresji nektyny 4. (Tabela 10-15) Pacjenci z wyższą ekspresją nektyny 4 w komórkach RJG mieli statystycznie gorsze rokowanie w każdym porównywanym okresie. Wykresy funkcji przeżycia wyraźnie pokazują różnice pomiędzy brakiem ekspresji a ekspresją słabą, umiarkowaną i wysoką na podstawie klasyfikacji IRS. Podobnie uzyskano statystyczną różnicę w przeżyciach pacjentów z podziałem ekspresji jedynie na podstawie odsetka komórek wykazujących ekspresję. W tym przypadku wykresy funkcji nie wykazują tak ewidentnych różnic jak w przypadku klasyfikacji IRS. W związku z prezentowanymi wynikami można założyć, że ekspresja nektyny 4 wiąże się z gorszym rokowaniem na podstawie przeżycia w analizowanych okresach. Ekspresja nektyny 4 posiada wartość prognostyczną dla pacjentów z RJG. Ekspresja nektyny 4 jest związana ze statystycznie większym ryzykiem zgonu w badanym okresie (HR=4; B=1,4; 95% CI, p<0.001). Na przykładzie nektyny 4 można przyznać, że przyjęta przez nas klasyfikacja IRS jest odpowiednia dla wydzielenia grup o stopniowo większej ekspresji nektyny 4 odpowiadającej istotnym statystycznie różnicom w prognozowanym przeżyciu. Uzyskane przez nas wyniki znajdują odzwierciedlenie w niedawno opublikowanej meta-analizie właściwości prognostycznych nektyny 4 w różnych nowotworach.¹⁷⁵ W analizowanych artykułach nie znalazł się niestety ani jeden o grupie pacjentów z rakiem jelita grubego. Wspominani wcześniej Moretto et al. nie stwierdzili związku pomiędzy ekspresją nektyny a przeżyciem wolnym od progresji choroby lub całkowitym przeżyciem.¹⁶² Nie zaobserwowano również różnicy w odpowiedzi na chemioterapię w grupach o różnej ekspresji

nektyny 4. Należy zwrócić uwagę na przyjęte w tym badaniu punkty odcięcia dla grup z niską, średnią i wysoką ekspresją nektyny 4 – w grupie o niskiej ekspresji znajdują się zarówno pacjenci z śladową lub zerową ekspresją jak i przypadki uzyskujące wynik 100/300 w klasyfikacji H-score, tym samym hipotetyczni chorzy o lepszej odpowiedzi na chemioterapię (brak ekspresji) mogą zostać „niezauważeni” w heterogennej grupie. Na podkreślenie zasługuje wykryty przez ten sam zespół związek pomiędzy ekspresją nektyny 4 a guzem pierwotnym zlokalizowanym w lewej połowie jelita grubego. W naszej grupie badanej nie obserwowano podobnego związku. Podobnie jak w przypadku związku nektyny 2 z guzami prawej połowy jelita grubego - otwiera to miejsce na ciekawą dyskusję pomiędzy profilem ekspresji nektyn a lokalizacją RJG i jego rokowaniem.

Brakuje większej ilości dostępnych badań, które skupiałyby się na analizie ekspresji nektyny 4 i przeżyciach pacjentów z RJG. Ma to szczególne znaczenie w obliczu potencjalnego zastosowania dostępnego, celowanego leczenia przeciwnowotworowego.

Enfortumab wedotyny (PADCEV) składa się z w pełni ludzkiego przeciwciała IgG1 kappa skierowanego przeciwko nektynie 4. Przeciwciało sprzężone jest z cytotoksycznym środkiem niszczącym mikrotubule, monometylo aurystatyną E (MMAE), za pośrednictwem łącznika rozszczepianego przez proteazę. Jest to lek przeciwnowotworowy z klasy ADC (antibody-drug conjugate) dopuszczony do stosowania przez FDA i EMA w przypadku miejscowo zaawansowanego i rozsianego raka uroterialnego.¹⁵ PADCEV stanowi doskonały przykład praktycznego zastosowania dotychczasowych badań nad nektynami w chorobach nowotworowych. Jego skuteczność w leczeniu innych rodzajów nowotworów, wykazujących ekspresję nektyny 4, jest przedmiotem aktualnych badań klinicznych.¹⁷⁶ Ze względu na obserwowany wysoki odsetek komórek RJG w naszej grupie badanej, wykazujących ekspresję nektyny 4 wydaje się zasadne rozważenie badania klinicznego z udziałem pacjentów z rakiem jelita grubego. Na podstawie doświadczeń innych badaczy należy mieć na uwadze, że heterogeniczność guza i różnice międzypersoniczne mogą być odzwierciedlone w zróżnicowanej ekspresji białek, co skutkuje zmiennymi wzorami barwienia immunohistochemicznego. Zmiany w ekspresji występować mogą również pomiędzy guzem pierwotnym a guzami przerzutowymi co w przypadku ADC może mieć kluczowe znaczenie w kwestii skuteczności terapii. Bicycle Toxin Conjugates (BTC) opierają się na podobnym mechanizmie co ADC, jednak są znacznie mniejszymi od przeciwciał monoklonalnych cząsteczkami, ulegającymi lepszej dystrybucji tkankowej.¹⁷⁷ W badaniach przedklinicznych, BT8009 połączony z MMAE wykazał

co najmniej taką samą skuteczność co PADCEV.¹⁷⁸ Występują oczywiście przypadki oporności na leczenie z wykorzystaniem Enfortumabu wedotyny. Wpływ na to ma między innymi zbyt niska ekspresja cząsteczek gwarantujących internalizację leku. Poza potencjalnie zmienną ekspresją w obrębie populacji komórkowej guza pierwotnego, występować może także zupełnie odmienny profil antygenowy w zmianach metastatycznych. Określenie ekspresji nektyny 4 za pomocą IHC może być niewykonalne w każdej zmianie przerzutowej, stąd poszukiwane są sposoby na nieinwazyjną detekcję czynnika predykcyjnego dla skuteczności leczenia PADCEV – czyli ekspresji nektyny 4.¹⁷⁹

Trwają także prace nad wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko nektynie 4 w produkcji radioznaczników onkofilnych do komputerowej tomografii emisyjnej pojedynczych fotonów (SPECT), dzięki którym możliwa będzie wizualizacja guza i przerzutów wykazujących ekspresję nektyny 4.¹⁸⁰

Jak wspomniano już we wstępie niniejszej rozprawy, nektyna 4 służy jako receptor wejścia wirusa odry (Measles Virus) (Tabela 1.). Daje to możliwość wykorzystania onkolitycznych właściwości MV w leczeniu raka wykazującego ekspresję nektyny 4. W dostępnej literaturze opisywano terapeutyczne wykorzystanie MV przeciwko komórkom chłoniaka Burkitta i raka płaskonabłonkowego związanego z chłoniakami nieziarniczymi.¹⁸¹ Sugiyama et al. wykorzystali naturalny efekt niszczenia komórek przez MV w leczeniu indukowanego raka piersi u myszy. Ich odkrycia wykazały, że rekombinowany MV specyficznie wiąże się z nektyną 4 na powierzchni komórek nowotworowych, a dodatkowo może być podobnie skuteczny w kilku innych nowotworach złośliwych, w tym RJG.¹⁸²

Prawdopodobnie najbardziej aktualnym doniesieniem w temacie klinicznego zastosowania nektyny 4 jest opublikowany raport z eksperymentu polegającego na wytworzeniu komórek CAR-T skierowanych przeciwko nektynie 4 w terapii przeciwko komórkom nowotworowym in vitro. Na mysim modelu raka jelita grubego uzyskano bardzo obiecujące efekty terapeutyczne w połączeniu limfodeplecji cyklofosfamidem z terapią CAR-T skierowaną przeciwko nektynie 4.¹⁸³

Nektyna 4 jako pierwsza wkroczyła do świata praktycznych zastosowań i stopniowo umacnia swoją pozycję jako obiekt licznych badań klinicznych. Pozostaje bardzo wiele zagadnień związanych z nektyną 4 i jej znaczeniem w RJG, które wymagają dalszych wyjaśnień. Ujednoczenie sposobu detekcji ekspresji nektyny 4, ocena heterogeniczności ekspresji wewnątrz guza i między zmianami przerzutowymi, skuteczność celowanych terapii

przeciwnowotworowych opartych na nektynie 4 w modelach komórkowych RJG to tylko niektóre z nich. Nie można zaprzeczyć, że istnieje wiele dowodów naukowych na istotną rolę jaką nektyny odgrywają w szeroko rozumianej chorobie nowotworowej. Pomimo wielu ograniczeń dotyczących metodologii niniejszej pracy, wyniki jakie uzyskano stanowią ciekawy element dyskusji i mam nadzieję, że będą stanowić dobry materiał do porównań dla kolejnych osób decydujących się na badania w przyszłości.

Wnioski

1. Ekspresję nektyny 2, 3 i 4 zaobserwowano odpowiednio w 58%, 62,6%, 87,9%, badanych preparatów. Ekspresja wybranych nektyń występuje w większości analizowanych przypadków i ma charakter heterogeniczny.
2. Ekspresje nektyń 3 i 4 są czynnikami prognostycznymi w raku jelita grubego
 - Pacjenci z wyższą ekspresją nektyny 4 w tkankach raka jelita grubego mieli istotnie statystycznie gorsze wskaźniki przeżycia w każdym z analizowanych okresów w porównaniu z pacjentami z niższą ekspresją.
 - Pacjenci z RJG, których komórki nie wykazywały ekspresji nektyny 3 mieli istotnie statystycznie gorsze wskaźniki przeżycia w każdym z analizowanych okresów.
 - Pacjenci z wyższą ekspresją nektyny 2 mieli gorsze wskaźniki przeżyć w analizowanych okresach, jednak różnica pomiędzy nimi nie była statystycznie istotna.
3. Zaobserwowano korelacje pomiędzy ekspresjami nektyń a czynnikami kliniczno-patologicznymi:
 - Wykazano dodatnią korelację pomiędzy ekspresją nektyny 4 i stężeniem CEA oraz wyższym zaawansowaniem raka jelita grubego.
 - Wykazano ujemną korelację pomiędzy ekspresją nektyny 3 a stężeniem CEA, wymiarem guza i stopniem zaawansowania RJG. Obserwowano związek pomiędzy brakiem ekspresji nektyny 3 a obecnością przerzutów odległych.
 - Guzy prawej połowy jelita grubego statystycznie częściej wykazują pozytywną ekspresję nektyny 2 w porównaniu z guzami lewej połowy jelita grubego.

Streszczenie

Rak jelita grubego (RJG) jest bardzo poważnym problemem zdrowotnym na całym świecie. Wg. WHO w 2020 r. zdiagnozowano 1,93 miliona nowych przypadków i odnotowano 935 000 zgonów spowodowanych RJG. Pomimo rozwoju medycyny, wskaźniki 5-letnich przeżyć u pacjentów chorujących na RJG nie ulegają zadowalającej poprawie na przestrzeni ostatnich lat. Nektyny należą do immunoglobulinopodobnych cząsteczek adhezyjnych, które odpowiadają za tworzenie połączeń międzykomórkowych oraz regulują podstawowe funkcje komórkowe, takie jak proliferacja, ruchliwość czy apoptoza. W chorobach nowotworowych obserwuje się zaburzenia ekspresji nektyn w komórkach guza. Pomimo rosnącej liczby badań nad nektynami, poziom zrozumienia ich roli w rozwoju i progresji choroby nowotworowej jest daleki od pełnego.

Celem niniejszej pracy jest ocena ekspresji wybranych nektyn w guzach nowotworowych jelita grubego, ich związku z obserwowanymi zmiennymi socjo-demograficznymi i klinicznymi oraz ocenę wykorzystania nektyn jako czynników prognostycznych dla pacjentów leczonych operacyjnie z powodu RJG.

W badaniu przeanalizowano dane medyczne 92 pacjentów operowanych z powodu RJG w latach 2013 i 2014 oraz ponownie oceniono preparaty histopatologiczne z dodatkową oceną ekspresji nektyn 2, 3 i 4 za pomocą metod immunohistochemicznych.

Wykazano heterogeniczną ekspresję nektyn 2, 3 i 4 w odpowiednio w 58%, 62,6% i 87,9% ocenianych preparatach. Zaobserwowano związek pomiędzy wyższą ekspresją nektyny 4 a gorszym 5-letnim i całkowitym czasem przeżycia. Ekspresja nektyny 4 jest negatywnym czynnikiem rokowniczym (HR = 4, 95% CI: 2.4-6.8, $p < 0.001$). W przypadku nektyny 3 obserwowano, że utrata ekspresji wiązała się gorszym rokowaniem dla pacjentów z RJG (HR = 0.54; 95% CI: 0.31-0.96; $p = 0.036$). Analiza wykazała dodatnią korelację pomiędzy ekspresją nektyny 4 a stężeniem CEA i stopniem zaawansowania RJG. Stwierdzono również ujemną korelację pomiędzy stężeniem nektyny 3, a stężeniem CEA, wielkością guza nowotworowego, obecnością przerzutów odległych i stopniem zaawansowania RJG. Guzy prawej połowy jelita grubego statystycznie częściej wykazują ekspresję nektyny 2 w porównaniu z guzami lewej połowy.

Niniejsza praca podkreśla znaczenie nektyn w RJG jako czynników prognostycznych i markerów progresji choroby. Duży odsetek komórek wykazujących ekspresję nektyny 4 daje nadzieje na skuteczne wykorzystanie terapii celowanych w RJG.

Abstract

Title: *Role of selected nectins as prognostic factors in colorectal cancer.*

Colorectal cancer (CRC) is a serious worldwide health problem with over 1.9 million new cases estimated in 2020. Globally, CRC is the third most diagnosed cancer in both sexes combined. It is estimated that CRC is the second most common cause of cancer-related mortality and accounts for approximately 930 thousand deaths around the world in 2020. Nectins are members of immunoglobulin-like adhesion molecules that play a significant role in intercellular adhesion formation and basic cell function regulation. Disturbed nectin expression patterns are observed in cancer. Despite the growing number of studies on nectins, our level of understanding of their role in the development and progression of cancer is far from complete.

The aim of this study was to assess the expression of selected nectins in colorectal cancer tumors, to investigate their relationship with the observed clinicopathological factors, and to verify the use of nectins as prognostic factors for CRC patients undergoing resection.

The study was based on the medical history data of 92 CRC patients, surgically treated in 2013 and 2014, with subsequent re-evaluation of tumor specimen in order to assess nectin expression with immunohistochemistry staining methods.

Study revealed heterogeneous expression of nectins 2, 3 and 4 in 58%, 62.6% and 87.9% of specimen respectively. A relationship between higher expression of nectin 4 and worse 5-year and overall survival was observed. Higher nectin expression had a negative prognostic value (HR = 4, 95% CI: 2.4-6.8, $p < 0.001$). Results suggest that the loss of nectin 3 expression was associated with a worse prognosis for CRC patients (HR = 0.54; 95% CI: 0.31-0.96; $p = 0.036$). A positive correlation was observed between the expression of nectin 4 and the concentration of CEA and the more advanced stage of disease. A negative correlation was found between nectin 3 expression and CEA concentration, tumor size, distant metastases presence and stage of disease. Tumors of the right half of the colon are statistically more likely to express nectin 2 than tumors of the left half.

This dissertation highlights the importance of nectins in CRC as prognostic factors and markers of disease progression. A large percentage of cells expressing nectin 4 gives hope for targeted therapies development.

KOMISJA BIOETYCZNA
przy
Uniwersytecie Medycznym
we Wrocławiu
ul. Pasteura 1; 50-367 WROCŁAW

OPINIA KOMISJI BIOETYCZNEJ Nr KB – 764/2021

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu, powołana zarządzeniem Rektora Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu nr 278/XVI R/2020 z dnia 21 grudnia 2020 r. oraz działająca w trybie przewidzianym rozporządzeniem Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. (Dz.U. nr 47, poz. 480) na podstawie ustawy o zawodzie lekarza z dnia 5 grudnia 1996 r. (Dz.U. nr 514 z 2020 r.) w składzie:

dr Joanna Birecka (psychiatria)
dr Beata Freier (onkologia)
dr hab. Tomasz Fuchs (ginekologia, położnictwo)
prof. dr hab. Dariusz Janczak (chirurgia naczyniowa, transplantologia)
dr hab. Krzysztof Kaliszewski (chirurgia endokrynologiczna)
dr prawa Andrzej Malicki (prawo)
dr hab. Marcin Mączyński, prof. UMW (farmacja)
Urszula Olechowska (pielęgniarstwo)
prof. dr hab. Leszek Szenborn (pediatria, choroby zakaźne)
prof. dr hab. Andrzej Szuba (choroby wewnętrzne, angiologia)
ks. prof. Andrzej Tomko (duchowny)
prof. dr hab. Mieszko Więckiewicz (stomatologia)
dr hab. Andrzej Wojnar, prof. nadzw. (histopatologia, dermatologia) przedstawiciel
Dolnośląskiej Izby Lekarskiej)
dr hab. Jacek Zieliński (filozofia)

pod przewodnictwem
prof. dr hab. Jerzego Rudnickiego (chirurgia, proktologia)

Przestrzegając w działalności zasad Good Clinical Practice oraz zasad Deklaracji Helsińskiej,
po zapoznaniu się z projektem badawczym pt.:

„Rola wybranych nektyn jako czynników prognostycznych w raku jelita grubego i odbytnicy”

zgłoszonym przez **lek. Jakuba Kobeckiego** doktoranta w Katedrze Pielęgniarstwa i
Położnictwa, Zakład Pielęgniarstwa Anestezjologicznego i Zabiegowego Uniwersytetu

Medycznego we Wrocławiu oraz złożonymi wraz z wnioskiem dokumentami, w tajnym głosowaniu postanowiła **wyrazić zgodę** na przeprowadzenie badania w Katedrze Pielęgniarstwa i Położnictwa, Zakład Pielęgniarstwa Anestezjologicznego i Zabiegowego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu pod nadzorem dr hab. Mariusza Chabowskiego, prof. UMW, **pod warunkiem zachowania anonimowości uzyskanych danych.**

Pouczenie: W ciągu 14 dni od otrzymania decyzji wnioskodawcy przysługuje prawo odwołania do Komisji Odwoławczej za pośrednictwem Komisji Bioetycznej UM we Wrocławiu.

Opinia powyższa dotyczy projektu badawczego będącego podstawą rozprawy doktorskiej.

Przewodniczący Komisji Bioetycznej
przy Uniwersytecie Medycznym


prof. dr hab. Jerzy Rudnicki

Wrocław, dnia 8 października 2021 r.

Zgoda Komendanta 4 Wojskowego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu



**4. Wojskowy Szpital Kliniczny
z Polikliniką SPZOZ we Wrocławiu**
ul. Rudolfa Weigla 5, 50-981 Wrocław

*18.01.2022
Aneta Walulik
Taw. O.*



Wrocław, 18.01.2022

KOMENDANT

4. Wojskowego Szpitala Klinicznego
z Polikliniką SPZOZ we Wrocławiu
(w miejscu)

Dotyczy: wyrażenia finalnej zgody na udostępnienie dokumentacji medycznej oraz przeprowadzenie badania naukowego, retrospektywnego prowadzonego na materiale pacjentów Kliniki Chirurgicznej 4. Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką SP ZOZ

Szanowny Panie Komendancie,

W załączeniu przedkładam Panu Komendantowi kserokopię zgody Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu (Uchwała KB 764/2021 z dnia 8 października 2021 r.) w sprawie wniosku lek. **Jakuba Kobeckiego**, rezydenta Kliniki Chirurgicznej 4. Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką SP ZOZ w sprawie przeprowadzenia badania pt.: **„Rola wybranych nektyn i białek podobnych do nektyn jako czynników prognostycznych w raku jelita grubego i odbytnicy”** na materiale pacjentów Kliniki Chirurgicznej 4. Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką SP ZOZ, będącego elementem rozprawy doktorskiej.

Informuję, że Pan Jakub Kobecki otrzymał wstępną zgodę w przedmiotowej sprawie (wstępna zgoda w załączeniu).

W związku z powyższym, proponuję wyrazić finalną zgodę na prowadzenie projektu badawczego jw. Pan Jakub Kobecki dopełnił obowiązku dostarczenia zgody Komisji Bioetycznej z uwzględnieniem 4. Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką SPZOZ we Wrocławiu jako miejsca prowadzenia badania.

Z poważaniem

KIEROWNIK
Działu Badań i Analiz
Ośrodka Badań i Innowacji
Aneta Walulik
mgr Aneta Walulik

Za zgodność

Załączniki 2 na 3 str.:

Załącznik 1.: Opinia Komisji Bioetycznej – 2 strony

Załącznik 2.: Wstępna zgoda Komendanta 4. WSK z Polikliniką SPZOZ we Wrocławiu – 1 strona

18.01.2022

KIEROWNIK
Działu Badań i Analiz
Ośrodka Badań i Innowacji
Aneta Walulik
mgr Aneta Walulik

Aneta Walulik, tel. 261-660-167
18.01.2022

Piśmiennictwo

1. Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E. & Jemal, A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin* **72**, 7–33 (2022).
2. Sung, H. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* **71**, 209–249 (2021).
3. Morgan, E. *et al.* Global burden of colorectal cancer in 2020 and 2040: incidence and mortality estimates from GLOBOCAN. *Gut* [gutjnl-2022-327736](https://doi.org/10.1136/gutjnl-2022-327736) (2022) doi:10.1136/gutjnl-2022-327736.
4. Sifaki-Pistolla, D. *et al.* Significant Rise of Colorectal Cancer Incidence in Younger Adults and Strong Determinants: 30 Years Longitudinal Differences between under and over 50s. *Cancers (Basel)* **14**, 1–13 (2022).
5. Keum, N. N. & Giovannucci, E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **16**, 713–732 (2019).
6. Del Vecchio Blanco, G., Calabrese, E., Biancone, L., Monteleone, G. & Paoluzi, O. A. The impact of COVID-19 pandemic in the colorectal cancer prevention. *Int J Colorectal Dis* **35**, 1951–1954 (2020).
7. Rottoli, M. *et al.* Colorectal Cancer Stage at Diagnosis Before vs During the COVID-19 Pandemic in Italy. *JAMA Netw Open* **5**, e2243119 (2022).
8. Prusaczyk, A. *et al.* Health Care Organization in Poland in Light of the Refugee Crisis Related to the Military Conflict in Ukraine. *Int J Environ Res Public Health* **20**, (2023).
9. Kardas, P., Babicki, M., Krawczyk, J. & Mastalerz-Migas, A. War in Ukraine and the challenges it brings to the Polish healthcare system. *The Lancet Regional Health - Europe* **15**, 1–2 (2022).
10. Dulskas, A., Gaizauskas, V., Kildusiene, I., Samalavicius, N. E. & Smailyte, G. Improvement of Survival over Time for Colorectal Cancer Patients: A Population-Based Study. *J Clin Med* **9**, 4038 (2020).
11. Afrăsânie, V. A. *et al.* KRAS, NRAS, BRAF, HER2 and microsatellite instability in metastatic colorectal cancer-practical implications for the clinician. *Radiol Oncol* **53**, 265–274 (2019).
12. Seo, K. J., Kim, M. & Kim, J. Prognostic implications of adhesion molecule expression in colorectal cancer. *Int J Clin Exp Pathol* **8**, 4148–4157 (2015).
13. Dymicka-Piekarska, V. & Kemon, H. Does colorectal cancer clinical advancement affect adhesion molecules (sP- selectin, sE- selectin and ICAM-1) concentration? *Thromb Res* **124**, 80–83 (2009).
14. Miyoshi, J. & Takai, Y. Nectin and nectin-like molecules: Biology and pathology. *Am J Nephrol* **27**, 590–604 (2007).
15. Challita-Eid, P. M. *et al.* Enfortumab vedotin antibody-drug conjugate targeting nectin-4 is a highly potent therapeutic agent in multiple preclinical cancer models. *Cancer Res* **76**, 3003–3013 (2016).
16. Okita, A. *et al.* Consensus molecular subtypes classification of colorectal cancer as a predictive factor for chemotherapeutic efficacy against metastatic colorectal cancer. *Oncotarget* **9**, 18698–18711 (2018).

17. Hoorn, S. Ten, De Back, T. R., Sommeijer, D. W. & Vermeulen, L. Clinical Value of Consensus Molecular Subtypes in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Natl Cancer Inst* **114**, 503–516 (2022).
18. Fong, C. F. & Corman, M. L. History of right colectomy for cancer. *Ann Laparosc Endosc Surg* **4**, 49–49 (2019).
19. Malik, A. A History of Colorectal Surgery. 12–13 (2020).
20. Kulendran, M., Stebbing, J. F., Marks, C. G. & Rockall, T. A. Predictive and prognostic factors in colorectal cancer: A personalized approach. *Cancers (Basel)* **3**, 1622–1638 (2011).
21. Koncina, E., Haan, S., Rauh, S. & Letellier, E. Prognostic and predictive molecular biomarkers for colorectal cancer: Updates and challenges. *Cancers (Basel)* **12**, 1–25 (2020).
22. Sarjanoja, E., Klintrup, K., Ohtonen, P. & Kauppila, J. H. Annual hospital volume and colorectal cancer survival in a population-based nationwide cohort study in Finland. *European Journal of Surgical Oncology* **48**, 1650–1655 (2022).
23. Huo, Y. R., Phan, K., Morris, D. L. & Liauw, W. Systematic review and a meta-analysis of hospital and surgeon volume/outcome relationships in colorectal cancer surgery. *J Gastrointest Oncol* **8**, 534–546 (2017).
24. Mulcahy, H. E., Hyland, J. & O'Donoghue, D. P. From dinosaurs to DNA: A history of colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* **18**, 210–215 (2003).
25. Fornaciari, A. *et al.* Cancer and therapy in the 16th century: the unique case of adenocarcinoma in Luigi Carafa, prince of Stigliano (1511–76). *Lancet Oncol* **20**, 1641–1642 (2019).
26. Wyld, L., Audisio, R. A. & Poston, G. J. The evolution of cancer surgery and future perspectives. *Nat Rev Clin Oncol* **12**, 115–124 (2015).
27. Tebala, G. D. History of colorectal surgery: A comprehensive historical review from the ancient Egyptians to the surgical robot. *Int J Colorectal Dis* **30**, 723–748 (2015).
28. Hajdu, S. I. A note from history: Landmarks in history of cancer, part 1. *Cancer* **117**, 1097–1102 (2011).
29. Kielan, W., Lazarkiewicz, B., Grzebieniak, Z., Skalski, A. & Zukrowski, P. Jan Mikulicz-Radecki: One of the creators of world surgery. *Keio Journal of Medicine* **54**, 1–7 (2005).
30. HEIDELBERGER, C. *et al.* Fluorinated Pyrimidines, A New Class of Tumour-Inhibitory Compounds. *Nature* **179**, 663–666 (1957).
31. Winawer, S. J. The History of Colorectal Cancer Screening: A Personal Perspective. *Dig Dis Sci* **60**, 596–608 (2015).
32. Gibson, N. J. Cell adhesion molecules in context: CAM function depends on the neighborhood. *Cell Adh Migr* **5**, 48–51 (2011).
33. Beauchemin, N. & Arabzadeh, A. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules (CEACAMs) in cancer progression and metastasis. *Cancer and Metastasis Reviews* **32**, 643–671 (2013).
34. Takahashi, K. *et al.* Nectin/PRR: An Immunoglobulin-like Cell Adhesion Molecule Recruited to Cadherin-based Adherens Junctions through Interaction with Afadin, a PDZ Domain-containing Protein. *J Cell Biol* **145**, 539–549 (1999).
35. Takai, Y., Miyoshi, J., Ikeda, W. & Ogita, H. Nectins and nectin-like molecules: Roles in contact inhibition of cell movement and proliferation. *Nat Rev Mol Cell Biol* **9**, 603–615 (2008).

36. Duraivelan, K. & Samanta, D. Tracing the evolution of nectin and nectin-like cell adhesion molecules. *Sci Rep* **10**, 1–9 (2020).
37. Sakisaka, T. & Takai, Y. Biology and pathology of nectins and nectin-like molecules. *Curr Opin Cell Biol* **16**, 513–521 (2004).
38. Duraivelan, K., Dash, S. & Samanta, D. An evolutionarily conserved charged residue dictates the specificity of heterophilic interactions among nectins. *Biochem Biophys Res Commun* **534**, 504–510 (2021).
39. Mizutani, K. & Takai, Y. Nectin spot: A novel type of nectin-mediated cell adhesion apparatus. *Biochemical Journal* **473**, 2691–2715 (2016).
40. Ogita, H. & Takai, Y. Cross-Talk Among Integrin, Cadherin, and Growth Factor Receptor: Roles of Nectin and Nectin-Like Molecule. *Int Rev Cytol* **265**, 1–54 (2008).
41. Sakamoto, Y. *et al.* Interaction of integrin $\alpha\beta 3$ with nectin: Implication in cross-talk between cell-matrix and cell-cell junctions. *Journal of Biological Chemistry* **281**, 19631–19644 (2006).
42. Pretzsch, E. *et al.* Mechanisms of Metastasis in Colorectal Cancer and Metastatic Organotropism: Hematogenous versus Peritoneal Spread. *J Oncol* **2019**, (2019).
43. Fujito, T. *et al.* Inhibition of cell movement and proliferation by cell-cell contact-induced interaction of Necl-5 with nectin-3. *Journal of Cell Biology* **171**, 165–173 (2005).
44. Nigam, A. K., Savage, F. J., Boulos, P. B., Stamp, G. W. H. & Pignatelli, D. L. & M. Loss of cell-cell and cell-matrix adhesion molecules in colorectal cancer. *Br* 507–514 (1993).
45. Zhang, Y. Y., Chen, B. & Ding, Y. Q. Metastasis-associated factors facilitating the progression of colorectal cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* **13**, 2437–2444 (2012).
46. Garouniatis, A. *et al.* FAK, CD44v6, c-Met and EGFR in colorectal cancer parameters: Tumour progression, metastasis, patient survival and receptor crosstalk. *Int J Colorectal Dis* **28**, 9–18 (2013).
47. Nanashima, A. *et al.* Expression of adhesion molecules in hepatic metastases of colorectal carcinoma: Relationship to primary tumours and prognosis after hepatic resection. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)* **14**, 1004–1009 (1999).
48. Lee, P. H. *et al.* Nectin4 is a potential therapeutic target for asthma. *Front Immunol* **13**, 1–12 (2022).
49. Mandai, K., Rikitake, Y., Mori, M. & Takai, Y. *Nectins and nectin-like molecules in development and disease. Current Topics in Developmental Biology* vol. 112 (Elsevier Inc., 2015).
50. Hirabayashi, K. *et al.* Loss of nectin-3 expression as a marker of tumor aggressiveness in pancreatic neuroendocrine tumor. *Pathol Int* **70**, 84–91 (2020).
51. Szmidt, J. *et al. Podstawy Chirurgii.* (Medycyna Praktyczna, 2022).
52. Lamb, M. N. & Kaiser, A. M. Anatomy, Physiology, and Measurement of Physiologic Function for Colorectal Surgery. *DeckerMed Surgery* (2015) doi:10.2310/surg.2268.
53. Kooij, I. A., Sahami, S., Meijer, S. L., Buskens, C. J. & te Velde, A. A. The immunology of the vermiform appendix: a review of the literature. *Clin Exp Immunol* **186**, 1–9 (2016).
54. Liang, J. T., Huang, J., Chen, T. C. & Hung, J. S. The Toldt fascia: A historic review and surgical implications in complete mesocolic excision for colon cancer. *Asian J Surg* **42**, 1–5 (2019).

55. Coffey, J. C. Surgical anatomy and anatomic surgery - Clinical and scientific mutualism. *Surgeon* **11**, 177–182 (2013).
56. Irving, M. H. & Catchpole, B. Anatomy and physiology of the colon, rectum, and anus. *Br Med J* **304**, 1106–1108 (1992).
57. Lim, D. R., Kuk, J. K., Kim, T. & Shin, E. J. Comparison of oncological outcomes of right-sided colon cancer versus left-sided colon cancer after curative resection. *Medicine (United States)* **96**, 1–7 (2017).
58. Hossain, Md. S. *et al.* Colorectal Cancer: A Review of Carcinogenesis, Global Epidemiology, Current Challenges, Risk Factors, Preventive and Treatment Strategies. *Cancer* **14**, 1–25 (2022).
59. Havenga, K., Grossmann, I., DeRuiter, M. & Wiggers, T. Definition of total mesorectal excision, including the perineal phase: Technical considerations. *Digestive Diseases* **25**, 44–50 (2007).
60. Dattani, M., Santiago, I., Mahadevan, V. & Heald, R. J. The mesorectum and mesocolon – Making sense of words. *International Journal of Surgery* **36**, 390–391 (2016).
61. Sehgal, R. & Coffey, J. C. The development of consensus for complete mesocolic excision (CME) should commence with standardisation of anatomy and related terminology. *Int J Colorectal Dis* **29**, 763–764 (2014).
62. Durot, C. *et al.* Cancer of the anal canal: Diagnosis, staging and follow-up with MRI. *Korean J Radiol* **18**, 946–956 (2017).
63. Ahmed, A., Arbor, T. C. & Qureshi, W. A. *Anatomy, Abdomen and Pelvis: Anal Canal. StatPearls* (2023).
64. GRIFFITHS, J. D. Surgical anatomy of the blood supply of the distal colon. *Ann R Coll Surg Engl* **19**, 241–256 (1956).
65. Kahai, P., Mandiga, P., Wehrle, C. J. & Lobo, S. *Anatomy, Abdomen and Pelvis: Large Intestine. in* (2023).
66. Sharabi, A. F. & Lui, F. *Anatomy, Abdomen and Pelvis, Splanchnic Nerves. StatPearls* (2023).
67. Ong, B. A., Vega, K. J. & Houchen, C. W. Intestinal stem cells and the colorectal cancer microenvironment. *World J Gastroenterol* **20**, 1898–1909 (2014).
68. Weiser, M. R. AJCC 8th Edition: Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol* **25**, 1454–1455 (2018).
69. Azzouz, L. L. & Sharma, S. *Physiology, Large Intestine. StatPearls* (2023).
70. Wojciechowska, U. *et al.* Nowotwory złośliwe w Polsce w 2020 roku, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy, Krajowy rejestr nowotworów. *Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy, Krajowy rejestr nowotworów* 5–90 (2022).
71. Survival and mortality for colorectal cancer. in 154–155 (2015). doi:10.1787/health_glance-2015-55-en.
72. Jeziorski, A., Rutkowski, P. & Wysocki, W. *Chirurgia Onkologiczna. Centrum* (PZWL Wydawnictwo Lekarskie, 2022).
73. Winawer, S. J. Natural history of colorectal cancer. *American Journal of Medicine* **106**, (1999).
74. Harada, S. & Morlote, D. Molecular Pathology of Colorectal Cancer. *Adv Anat Pathol* **27**, 20–26 (2020).

75. Mármol, I., Sánchez-de-Diego, C., Dieste, A. P., Cerrada, E. & Yoldi, M. J. R. Colorectal carcinoma: A general overview and future perspectives in colorectal cancer. *Int J Mol Sci* **18**, (2017).
76. Kuipers, E. J. *et al.* Colorectal cancer. *Nat Rev Dis Primers* **1**, 1–25 (2015).
77. Jiao, S. *et al.* Estimating the heritability of colorectal cancer. *Hum Mol Genet* **23**, 3898–3905 (2014).
78. Jasperson, K. W., Tuohy, T. M., Neklason, D. W. & Burt, R. W. Hereditary and Familial Colon Cancer. *Gastroenterology* **138**, 2044–2058 (2010).
79. Lewandowska, A., Rudzki, G., Lewandowski, T., Strykowska-Góra, A. & Rudzki, S. Risk Factors for the Diagnosis of Colorectal Cancer. *Cancer Control* **29**, 10732748211056692 (2022).
80. Shaw, E. *et al.* Effects of physical activity on colorectal cancer risk among family history and body mass index subgroups: A systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer* **18**, 1–15 (2018).
81. Pedersen, A., Johansen, C. & Grønbaek, M. Relations between amount and type of alcohol and colon and rectal cancer in a Danish population based cohort study. *Gut* **52**, 861–867 (2003).
82. Doubeni, C. A. *et al.* Socioeconomic status and the risk of colorectal cancer: An analysis of more than a half million adults in the National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study. *Cancer* **118**, 3636–3644 (2012).
83. Nishihara, R. *et al.* Long-Term Colorectal-Cancer Incidence and Mortality after Lower Endoscopy. *New England Journal of Medicine* **369**, 1095–1105 (2013).
84. Kaminski, M. F. *et al.* Design of the Polish Colonoscopy Screening Program: A randomized health services study. *Endoscopy* **47**, 1144–1150 (2015).
85. Paty, P. B. & Garcia-Aguilar, J. Colorectal cancer. *J Surg Oncol* **126**, 881–887 (2022).
86. Hayman, C. V. & Vyas, D. Screening colonoscopy: The present and the future. *World J Gastroenterol* **27**, 233–239 (2021).
87. Gini, A. *et al.* Impact of colorectal cancer screening on cancer-specific mortality in Europe: A systematic review. *Eur J Cancer* **127**, 224–235 (2020).
88. Argilés, G. *et al.* Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* **31**, 1291–1305 (2020).
89. Li, J. N. & Yuan, S. Y. Fecal occult blood test in colorectal cancer screening. *J Dig Dis* **20**, 62–64 (2019).
90. Zygulska, A. L. & Pierzchalski, P. Novel Diagnostic Biomarkers in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci* **23**, 1–50 (2022).
91. Wyroślak-Najs, J. *et al.* *Chirurgia*. (PZWL Wydawnictwo Lekarskie, 2022). doi:10.53270/2021.013.
92. Liang, J. T., Lai, H. S., Huang, J. & Sun, C. T. Long-term oncologic results of laparoscopic D3 lymphadenectomy with complete mesocolic excision for right-sided colon cancer with clinically positive lymph nodes. *Surg Endosc* **29**, 2394–2401 (2015).
93. Lee, R. M., Cardona, K. & Russell, M. C. Historical perspective: Two decades of progress in treating metastatic colorectal cancer. *J Surg Oncol* **119**, 549–563 (2019).
94. Glynne-Jones, R. *et al.* Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* **28**, iv22–iv40 (2017).
95. Didkowska, J., Wojciechowska, U., Olasek, P. & Czauderna, K. Nowotwory Złośliwe W Polsce W 2013 Roku. *J Oncol* **63**, 197–216 (2015).

96. Didkowska, J. & Wojciechowska, U. Nowotwory Złosliwe w Polsce w 2014 roku. (2016).
97. Hofmann, M. *et al.* Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: Results from a validation study. *Histopathology* **52**, 797–805 (2008).
98. Specht, E. *et al.* Comparison of immunoreactive score, HER2/neu score and H score for the immunohistochemical evaluation of somatostatin receptors in bronchopulmonary neuroendocrine neoplasms. *Histopathology* **67**, 368–377 (2015).
99. Fedchenko, N. & Reifenrath, J. Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue - a review. *Diagn Pathol* **9**, 221 (2014).
100. Nishizaki, D. *et al.* Laparoscopic Versus Open Surgery for Locally Advanced Rectal Cancer: Five-Year Survival Outcomes in a Large, Multicenter, Propensity Score-Matched Cohort Study. *Dis Colon Rectum* **65**, 1005–1014 (2022).
101. Kong, M., Chen, H., Shan, K., Sheng, H. & Li, L. Comparison of Survival Among Adults With Rectal Cancer Who Have Undergone Laparoscopic vs Open Surgery: A Meta-analysis. *JAMA Netw Open* **5**, E2210861 (2022).
102. Fujii, S. *et al.* Systematic review of laparoscopic vs open surgery for colorectal cancer in elderly patients. *World J Gastrointest Oncol* **8**, 573–582 (2016).
103. Chiu, C. C. *et al.* Comparison of oncologic outcomes in laparoscopic versus open surgery for non-metastatic colorectal cancer: Personal experience in a single institution. *J Clin Med* **8**, (2019).
104. Warps, A. L. K. *et al.* Laparoscopic versus open colorectal surgery in the emergency setting: A systematic review and meta-analysis. *Ann Surg* (2021) doi:10.1097/AS9.000000000000097.
105. Kong, M., Chen, H., Shan, K., Sheng, H. & Li, L. Comparison of Survival Among Adults With Rectal Cancer Who Have Undergone Laparoscopic vs Open Surgery: A Meta-analysis. *JAMA Netw Open* **5**, E2210861 (2022).
106. Oshima, T. *et al.* Nectin-2 is a potential target for antibody therapy of breast and ovarian cancers. *Mol Cancer* **12**, 1–13 (2013).
107. Liang, S. *et al.* The clinical and pathological significance of nectin-2 and DDX3 expression in pancreatic ductal adenocarcinomas. *Dis Markers* **2015**, (2015).
108. Bekes, I. *et al.* Nectin-2 in ovarian cancer: How is it expressed and what might be its functional role? *Cancer Sci* **110**, 1872–1882 (2019).
109. Thul, P. J. & Lindskog, C. The human protein atlas: A spatial map of the human proteome. *Protein Science* **27**, 233–244 (2018).
110. Uhlén, M. *et al.* Tissue-based map of the human proteome. *Science (1979)* **347**, (2015).
111. Miyake, M. *et al.* Tumor expression of Nectin-1–4 and its clinical implication in muscle invasive bladder cancer: An intra-patient variability of Nectin-4 expression. *Pathol Res Pract* **237**, 154072 (2022).
112. Martin, T. A., Lane, J., Harrison, G. M. & Jiang, W. G. The expression of the nectin complex in human breast cancer and the role of Nectin-3 in the control of tight junctions during metastasis. *PLoS One* **8**, (2013).
113. Duravelan, K. & Samanta, D. Emerging roles of the nectin family of cell adhesion molecules in tumour-associated pathways. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* **1876**, 188589 (2021).

114. Zhang, Z. *et al.* Identification and functional analysis of ligands for natural killer cell activating receptors in colon carcinoma. *Tohoku J Exp Med* **226**, 59–68 (2012).
115. Karabulut, M. *et al.* Serum nectin-2 levels are diagnostic and prognostic in patients with colorectal carcinoma. *Clinical and Translational Oncology* **18**, 160–171 (2016).
116. Erturk, K. *et al.* Serum nectin-2 and nectin-4 are diagnostic in lung cancer: which is superior? *Wien Klin Wochenschr* **131**, 419–426 (2019).
117. Koomägi, R. & Volm, M. Expression of Fas (CD95/APO-1) and Fas ligand in lung cancer, its prognostic and predictive relevance. *Int J Cancer* **84**, 239–243 (1999).
118. Alteber, Z. *et al.* Therapeutic targeting of checkpoint receptors within the dnam1 axis. *Cancer Discov* **11**, 1040–1051 (2021).
119. Fathi, M. *et al.* T-cell immunoglobulin and ITIM domain, as a potential immune checkpoint target for immunotherapy of colorectal cancer. *IUBMB Life* **73**, 726–738 (2021).
120. Chauvin, J. M. & Zarour, H. M. TIGIT in cancer immunotherapy. *J Immunother Cancer* **8**, (2020).
121. Huang, X. *et al.* Low expression of CD112 is associated with poor overall survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Hum Pathol* **45**, 1944–1950 (2014).
122. Zeng, T. *et al.* The CD112R/CD112 axis: a breakthrough in cancer immunotherapy. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research* vol. 40 1–11 Preprint at <https://doi.org/10.1186/s13046-021-02053-y> (2021).
123. Whelan., S., Eran, O., Maya, F. K., Ofer, L. & Sudipto Ganguly, Ling Leung Ilan Vaknin, Sandeep Kumar, Liat Dassa², Kyle Hansen¹, David Bernados¹, Benjamin Murter³, Abha Soni³, Janis M. Taube³, Amanda Nickles Fader⁴, Tian-Li Wang⁴, le-Ming Shih⁴, Mark White¹, Drew M. Pardoll³, S. C. L. PVRIG and PVRL2 Are Induced in Cancer and Inhibit CD8+ T-cell Function. *Physiol Behav* **176**, 498–503 (2017).
124. Devilard, E., Xerri, L., Dubreuil, P., Lopez, M. & Reymond, N. Nectin-3 (CD113) Interacts with Nectin-2 (CD112) to Promote Lymphocyte Transendothelial Migration. *PLoS One* **8**, 1–12 (2013).
125. Li, M. *et al.* Elevated Nectin-2 expression is involved in esophageal squamous cell carcinoma by promoting cell migration and invasion. *Oncol Lett* **15**, 4731–4736 (2018).
126. Yin, J. *et al.* Prognostic and Predictive Impact of Primary Tumor Sidedness for Previously Untreated Advanced Colorectal Cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* **113**, 1705–1713 (2021).
127. Mangone, L. *et al.* Colon cancer survival differs from right side to left side and lymph node harvest number matter. *BMC Public Health* **21**, 1–10 (2021).
128. Puccini, A., Marshall, J. L. & Salem, M. E. Molecular Variances Between Right- and Left-sided Colon Cancers. *Curr Colorectal Cancer Rep* **14**, 152–158 (2018).
129. Kobecki, J., Gajdzis, P., Mazur, G. & Chabowski, M. Nectins and Nectin-like Molecules in Colorectal Cancer: Role in Diagnostics, Prognostic Values, and Emerging Treatment Options: A Literature Review. *Diagnostics* **12**, (2022).
130. Lee, J., Warnken, U., Schnölzer, M., Gebert, J. & Kopitz, J. A new method for detection of tumor driver-dependent changes of protein sialylation in a colon cancer cell line reveals nectin-3 as TGFBR2 target. *Protein Science* **24**, 1686–1694 (2015).
131. Marciel, M. P., Haldar, B., Hwang, J., Bhalerao, N. & Bellis, S. L. Chapter Five - Role of tumor cell sialylation in pancreatic cancer progression. in *Novel Methods and Pathways in Cancer Glycobiology Research* (eds. ABBOTT, K. L. & DIMITROFF, C. J. B. T.-A. in C. R.) vol. 157 123–155 (Academic Press, 2023).

132. LaFrance, M. E. *et al.* Identification of an epithelial cell receptor responsible for *Clostridium difficile* TcdB-induced cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* **112**, 7073–7078 (2015).
133. Maniwa, Y., Nishio, W., Okita, Y. & Yoshimura, M. Expression of nectin 3: Novel prognostic marker of lung adenocarcinoma. *Thorac Cancer* **3**, 175–181 (2012).
134. Xu, F. *et al.* Nectin-3 is a new biomarker that mediates the upregulation of MMP2 and MMP9 in ovarian cancer cells. *Biomedicine and Pharmacotherapy* **110**, 139–144 (2019).
135. Zhao, Y. *et al.* ZNF582 hypermethylation promotes metastasis of nasopharyngeal carcinoma by regulating the transcription of adhesion molecules Nectin-3 and NRXN3. *Cancer Commun* **40**, 721–737 (2020).
136. Izumi, H., Hirabayashi, K., Nakamura, N. & Nakagohri, T. Nectin expression in pancreatic adenocarcinoma: nectin-3 is associated with a poor prognosis. *Surg Today* **45**, 487–494 (2015).
137. Samanta, D. & Almo, S. C. Nectin family of cell-adhesion molecules: Structural and molecular aspects of function and specificity. *Cellular and Molecular Life Sciences* **72**, 645–658 (2015).
138. Tsai, P. L., Su, W. J., Leung, W. H., Lai, C. T. & Liu, C. K. Neutrophil-lymphocyte ratio and CEA level as prognostic and predictive factors in colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *J Cancer Res Ther* **12**, 582–589 (2016).
139. Lakemeyer, L. *et al.* Diagnostic and Prognostic Value of CEA and CA19-9 in Colorectal Cancer. *Diseases* **9**, 21 (2021).
140. Alese, O. B. *et al.* Predictive and Prognostic Effects of Primary Tumor Size on Colorectal Cancer Survival. *Front Oncol* **11**, 1–12 (2021).
141. Dai, W. *et al.* The Critical Role of Tumor Size in Predicting Prognosis for T1 Colon Cancer. *Oncologist* **25**, 244–251 (2020).
142. Dai, W. *et al.* Does tumor size have its prognostic role in colorectal cancer? Re-evaluating its value in colorectal adenocarcinoma with different macroscopic growth pattern. *International Journal of Surgery* **45**, 105–112 (2017).
143. Li, J. *et al.* TNM staging of colorectal cancer should be reconsidered by T stage weighting. *World J Gastroenterol* **20**, 5104–5112 (2014).
144. Heath, E. I. & Rosenberg, J. E. The biology and rationale of targeting nectin-4 in urothelial carcinoma. *Nat Rev Urol* **18**, 93–103 (2021).
145. Sethy, C. *et al.* Clinical significance of a pvrl 4 encoded gene Nectin-4 in metastasis and angiogenesis for tumor relapse. *J Cancer Res Clin Oncol* **146**, 245–259 (2020).
146. Lin, X., Hu, H., Pan, Y., Pan, Y. & Gao, S. The prognostic role of expression of nectin-4 in esophageal cancer. *Medical Science Monitor* **25**, 10089–10094 (2019).
147. Zeindler, J. *et al.* Nectin-4 Expression Is an Independent Prognostic Biomarker and Associated With Better Survival in Triple-Negative Breast Cancer. *Front Med (Lausanne)* **6**, 1–7 (2019).
148. Rodler, S. *et al.* Expression of Nectin-4 in Variant Histologies of Bladder Cancer and Its Prognostic Value—Need for Biomarker Testing in High-Risk Patients? *Cancers (Basel)* **14**, (2022).
149. Zhang, J. *et al.* Upregulation of nectin-4 is associated with ITGB1 and vasculogenic mimicry and may serve as a predictor of poor prognosis in colorectal cancer. *Oncol Lett* **18**, 1163–1170 (2019).

150. Zschäbitz, S. *et al.* Expression of nectin-4 in papillary renal cell carcinoma. *Discover Oncology* (2022) doi:10.1007/s12672-022-00558-2.
151. Hao, R. T. *et al.* NECTIN4 promotes papillary thyroid cancer cell proliferation, migration, and invasion and triggers EMT by activating AKT. *Cancer Manag Res* **11**, 2565–2578 (2019).
152. Zhou, Y. *et al.* Cancer stem cells in progression of colorectal cancer. *Oncotarget* **9**, 33403–33415 (2018).
153. Atashzar, M. R. *et al.* Cancer stem cells: A review from origin to therapeutic implications. *J Cell Physiol* **235**, 790–803 (2020).
154. Das, P. K., Islam, F. & Lam, A. K. The Roles of Cancer Stem Cells and Therapy Resistance in Colorectal Carcinoma. *Cells* **9**, 1–21 (2020).
155. Siddharth, S. *et al.* Nectin-4 is a breast cancer stem cell marker that induces WNT/ β -catenin signaling via Pi3k/Akt axis. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* **89**, 85–94 (2017).
156. Das, D., Satapathy, S. R., Siddharth, S., Nayak, A. & Kundu, C. N. NECTIN-4 increased the 5-FU resistance in colon cancer cells by inducing the PI3K-AKT cascade. *Cancer Chemother Pharmacol* **76**, 471–479 (2015).
157. Lin, X., Hu, H., Pan, Y., Pan, Y. & Gao, S. The prognostic role of expression of nectin-4 in esophageal cancer. *Medical Science Monitor* **25**, 10089–10094 (2019).
158. Takano, A. *et al.* Identification of Nectin-4 oncoprotein as a diagnostic and therapeutic target for lung cancer. *Cancer Res* **69**, 6694–6703 (2009).
159. Sethy, C., Goutam, K., Das, B., Dash, S. R. & Kundu, C. N. Nectin-4 promotes lymphangiogenesis and lymphatic metastasis in breast cancer by regulating CXCR4-LYVE-1 axis. *Vascul Pharmacol* **140**, 106865 (2021).
160. Deng, H., Shi, H., Chen, L., Zhou, Y. & Jiang, J. Over-expression of Nectin-4 promotes progression of esophageal cancer and correlates with poor prognosis of the patients. *Cancer Cell Int* **19**, 1–13 (2019).
161. Liu, Y. *et al.* Nectin-4 promotes osteosarcoma progression and metastasis through activating PI3K/AKT/NF- κ B signaling by down-regulation of miR-520c-3p. *Cancer Cell Int* **22**, 1–18 (2022).
162. Moretto, R. *et al.* Trop-2 and Nectin-4 immunohistochemical expression in metastatic colorectal cancer: searching for the right population for drugs' development. *Br J Cancer* **128**, 1391–1399 (2023).
163. Sun, B., Zhang, D., Zhao, N. & Zhao, X. Epithelial-to-endothelial transition and cancer stem cells: Two cornerstones of vasculogenic mimicry in malignant tumors. *Oncotarget* **8**, 30502–30510 (2017).
164. Zhang, J. *et al.* Vasculogenic mimicry and tumor metastasis. *Journal of B.U.ON.* **21**, 533–541 (2016).
165. Fabre-Lafay, S. *et al.* Nectin-4, a new serological breast cancer marker, is a substrate for tumor necrosis factor- α -converting enzyme (TACE)/ADAM-17. *Journal of Biological Chemistry* **280**, 19543–19550 (2005).
166. Siddharth, S. *et al.* The soluble nectin-4 ecto-domain promotes breast cancer induced angiogenesis via endothelial Integrin- β 4. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* **102**, 151–160 (2018).
167. Chatterjee, S. & Kundu, C. N. Nanoformulated quinacrine regulates NECTIN-4 domain specific functions in cervical cancer stem cells. *Eur J Pharmacol* **883**, 173308 (2020).

168. Chatterjee, S., Sinha, S., Molla, S., Hembram, K. C. & Kundu, C. N. PARP inhibitor Veliparib (ABT-888) enhances the anti-angiogenic potentiality of Curcumin through deregulation of NECTIN-4 in oral cancer: Role of nitric oxide (NO). *Cell Signal* **80**, 109902 (2021).
169. Kedashiro, S., Sugiura, A., Mizutani, K. & Takai, Y. Nectin-4 cis-interacts with ErbB2 and its trastuzumab-resistant splice variants, enhancing their activation and DNA synthesis. *Sci Rep* **9**, 1–5 (2019).
170. Kedashiro, S., Kameyama, T., Mizutani, K. & Takai, Y. Nectin-4 and p95-ErbB2 cooperatively regulate Hippo signaling-dependent SOX2 gene expression, enhancing anchorage-independent T47D cell proliferation. *Sci Rep* **11**, 1–18 (2021).
171. Zhu, Y. *et al.* SOX2 promotes chemoresistance, cancer stem cells properties, and epithelial–mesenchymal transition by β -catenin and Beclin1/autophagy signaling in colorectal cancer. *Cell Death Dis* **12**, (2021).
172. Pavlova, N. N. *et al.* A role for PVRL4-driven cell-cell interactions in tumorigenesis. *Elife* **2013**, 358 (2013).
173. Cui, K. *et al.* The CXCR4-CXCL12 pathway facilitates the progression of pancreatic cancer via induction of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Journal of Surgical Research* **171**, 143–150 (2011).
174. Huang, C. & Chen, Y. Lymphangiogenesis and colorectal cancer. *Saudi Med J* **38**, 237–244 (2017).
175. Liu, R. *et al.* Prognostic value of nectin-4 in human cancers: A meta-analysis. *Front Oncol* **13**, 1–8 (2023).
176. Tarantino, P. *et al.* Antibody–drug conjugates: Smart chemotherapy delivery across tumor histologies. *CA Cancer J Clin* **72**, 165–182 (2022).
177. Eder, M. *et al.* Bicyclic peptides as a new modality for imaging and targeting of proteins overexpressed by tumors. *Cancer Res* **79**, 841–852 (2019).
178. Mudd, G. E. *et al.* Discovery of BT8009: A Nectin-4 Targeting Bicycle Toxin Conjugate for the Treatment of Cancer. *J Med Chem* **65**, 14337–14347 (2022).
179. Klümper, N. *et al.* Membranous NECTIN-4 Expression Frequently Decreases during Metastatic Spread of Urothelial Carcinoma and Is Associated with Enfortumab Vedotin Resistance. *Clinical Cancer Research* OF1–OF10 (2023) doi:10.1158/1078-0432.ccr-22-1764.
180. Shao, F. *et al.* Nectin-4-targeted immunoSPECT/CT imaging and photothermal therapy of triple-negative breast cancer. *J Nanobiotechnology* **20**, 1–17 (2022).
181. Li, H., Peng, K.-W. & Russell, S. J. Oncolytic Measles Virus Encoding Thyroidal Sodium Iodide Symporter for Squamous Cell Cancer of the Head and Neck Radiovirotherapy. doi:10.1089/hum.2011.128.
182. Sugiyama, T. *et al.* Measles virus selectively blind to signaling lymphocyte activation molecule as a novel oncolytic virus for breast cancer treatment. *Gene Ther* **20**, 338–347 (2013).
183. Li, F. *et al.* Development of Nectin4/FAP-targeted CAR-T cells secreting IL-7, CCL19, and IL-12 for malignant solid tumors. *Front Immunol* **13**, 1–14 (2022).

Spis tabel

<i>Tabela 1. Różne nazewnictwo nekryn i Necl-5 oraz ich funkcje jako receptory wejścia dla wirusów</i>	Str. 14
<i>Tabela 2. Wskaźniki przeżyć 5-letnich w Polsce o okresach od 2000-2015</i>	Str. 28
<i>Tabela 3. Wybrane różnice pomiędzy RJG prawej i lewej połowy jelita grubego.</i>	Str.30
<i>Tabela 4 Czynniki ryzyka związane z wystąpieniem raka jelita grubego.</i>	Str.34
<i>Tabela 5 Metody przesiewowe RJG.</i>	Str. 38
<i>Tabela 6. Stopień zaawansowania RJG na podstawie TNM UICC/AJCC 8. Edycja</i>	Str. 45
<i>Tabela 7 Statystyka opisowa</i>	Str. 47
<i>Tabela 8. Klasyfikacja IRS</i>	Str. 49
<i>Tabela 9. Wskaźniki przeżycia dla przedziałów czasowych</i>	Str. 55
<i>Tabela 10. Wyniki analiz przeżycia całkowitego dla pozytywnej i negatywnej ekspresji nekryn</i>	Str. 57
<i>Tabela 11. Wyniki analiz przeżycia 5-letniego dla ekspresji nekryn 2,3 i 4 wg. Klasyfikacji IRS</i>	Str. 59
<i>Tabela 12. Wyniki analiz przeżycia całkowitego dla ekspresji nekryn 2,3 i 4 wg. Klasyfikacji IRS</i>	Str. 60
<i>Tabela 13. Wyniki analiz przeżycia 5-letniego dla ekspresji nekryn wg. Klasyfikacji IRS (0-1) vs. (2-12)</i>	Str. 62

<i>Tabela 14. Wyniki analiz przeżycia całkowitego dla ekspresji nektyn wg. Klasyfikacji IRS (0-1) vs. (2-12)</i>	Str. 62
<i>Tabela 15. Współczynnik hazardu dla zgonu w zależności od ekspresji nektyn (wg. wyróżnionych podziałów) w całym okresie obserwacji.</i>	Str.64
<i>Tabela 16. Współczynniki korelacji ekspresji nektyn 2, 3 i 4 oraz pozostałych mierzonych zmiennych</i>	Str. 65
<i>Tabela 17. Tabela krzyżowa dla ekspresji nektyny 2 oraz pozostałych zmiennych</i>	Str. 67
<i>Tabela 18. Tabela krzyżowa dla ekspresji nektyny 2 oraz cech T, N i M</i>	Str. 68
<i>Tabela 19. Tabela krzyżowa dla ekspresji nektyny 3 oraz pozostałych zmiennych</i>	Str. 69
<i>Tabela 20. Tabela krzyżowa dla ekspresji nektyny 3 oraz T, N i M</i>	Str. 70
<i>Tabela 21. Tabela krzyżowa dla ekspresji nektyny 4 oraz pozostałych zmiennych</i>	Str. 71
<i>Tabela 22. Tabela krzyżowa dla ekspresji nektyny 4 oraz T, N i M</i>	Str. 72
<i>Tabela 23. Wyniki analiz przeżycia dla przedziałów czasowych i cechy T</i>	Str. 73
<i>Tabela 24. Wyniki analiz przeżycia dla przedziałów czasowych i cechy M</i>	Str.74
<i>Tabela 25. Wyniki analiz przeżycia dla przedziałów czasowych i stopnia zaawansowania (stage)</i>	Str. 75
<i>Tabela 26. Wyniki analiz przeżycia dla przedziałów czasowych i lokalizacji guza w jelicie grubym</i>	Str.77
<i>Tabela 27. Wyniki analiz przeżycia dla przedziałów czasowych i lokalizacji guza w odbytnicy</i>	Str.78

Tabela 28. Wyniki analiz przeżycia dla przedziałów czasowych i techniki operacyjnej (laparoscopia vs. zabieg klasyczny

.....Str. 79

Tabela 29. Współczynniki korelacji czasu przeżycia (okres 5-letni oraz całkowity) oraz pozostałych mierzonych zmiennych

.....Str. 80

Spis rycin

Rycina 1. Drzewo filogenetyczne ludzkich analogów nektyń i Necls.	Str. 15
Rycina 2. Odbytńca i struktury sąsiadujące - przekrój strzałkowy.	Str.21
Rycina 3. Komputerowo stworzony model 3D jelita grubego wraz z powierzchniami mezokolon i mezorektum.	Str. 2
<i>Rycina 4. Warstwy prawidłowej ściany jelita grubego.</i>	Str.25
Rycina 5. 5-letnie względne przeżycia pacjentów z RJG e latach 1998-2003 i 2008-2013 (lub najbliższych) w krajach OECD.	Str. 28
<i>Rycina 6. Schematycznie przedstawione typowe zakresy resekcji jelita grubego.</i>	Str. 42
Rycina 7. Reprezentacja klasyfikacji IRS na przykładowych preparatach grupy badanej	Str. 50
<i>Rycina 8. Funkcja całkowitego przeżycia pacjentów z grupy badanej.</i>	Str. 55
<i>Rycina 9. Funkcje całkowitego przeżycia dla negatywnej i pozytywnej ekspresji nektyńy 2</i>	Str.57
<i>Rycina 10. Funkcje całkowitego przeżycia dla negatywnej i pozytywnej ekspresji nektyńy 3</i>	Str. 58
<i>Rycina 11. Funkcje całkowitego przeżycia dla negatywnej i pozytywnej ekspresji nektyńy 4</i>	Str. 58
<i>Rycina 12. Funkcje całkowitego przeżycia dla 4-stopniowej skali ekspresji nektyń 2.</i>	Str.60
<i>Rycina 13. Funkcje całkowitego przeżycia dla 4-stopniowej skali ekspresji nektyń 2.</i>	Str.61

<i>Rycina 14. Funkcje całkowitego przeżycia dla 4-stopniowej skali ekspresji nektyn 2.</i>	Str.61
<i>Rycina 15. Funkcje całkowitego przeżycia dla nektyny 2 i alternatywnej klasyfikacji IRS (0-1) vs. (2-12)</i>	Str. 63
<i>Rycina 16. Funkcje całkowitego przeżycia dla nektyny 3 i alternatywnej klasyfikacji IRS (0-1) vs. (2-12)</i>	Str. 63
<i>Rycina 17. Funkcje całkowitego przeżycia dla nektyny 4 i alternatywnej klasyfikacji IRS (0-1) vs. (2-12)</i>	Str.64
<i>Rycina 18. Funkcje całkowitego przeżycia dla 4-stopniowego T</i>	Str. 73
<i>Rycina 19. Funkcje całkowitego przeżycia dla N</i>	Str. 74
<i>Rycina 20. Funkcje całkowitego przeżycia dla cechy M</i>	Str. 75
<i>Rycina 21. Funkcje całkowitego przeżycia w podziale na stopień zaawansowania.</i>	Str. 76
<i>Rycina 22. Funkcje całkowitego przeżycia w zależności od lokalizacji guza w jelicie grubym.</i>	Str. 77
<i>Rycina 23. Funkcje całkowitego przeżycia w podziale na lokalizację w odbytnicy i w pozostałej części jelita grubego.</i>	Str. 78
<i>Rycina 24. Funkcje całkowitego przeżycia w podziale na zabiegi laparoskopowe i klasyczne.</i>	Str. 79