

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

CRAIOVA

ȘCOALA DOCTORALĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

Factori de prognostic precoce și de etapă în cancerul colorectal avansat locoregional.

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

Prof. Univ Dr. SĂFTOIU ADRIAN

DOCTORAND:

BĂRBĂLAN ALEXANDRU

CRAIOVA

2018

CUPRINS

INTRODUCERE

PARTEA GENERALĂ

Capitolul I. Noțiuni de anatomie ale colonului și rectului

Capitolul II. Oncogeneza tumorilor colorectale

Capitolul III. Manifestări clinice, etape diagnostice și atitudinea clinică în cancerul colorectal

Capitolul IV. Rolul markerilor în cancerul colorectal

CERCETARE PERSONALĂ

Capitolul V. Obiectivele lucrării. Materiale studiate.

Capitolul VI. Analiza imunoenzimatică

Capitolul VII. Analiza genetică

Capitolul VIII. Concluzii

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

Cuvinte cheie: cancer colorectal, markeri tumorali, factori de prognostic, interleukina 8, expresie genică, analiza imunoenzimatică

INTRODUCERE

Cancerul colorectal reprezintă o patologie problematică în cadrul sistemelor de sănătate publică pentru că, frecvent, diagnosticul se face în stadii tardive și este corelat cu o mortalitate crescută.

Îmbunătățirea mijloacelor de stabilire a diagnosticului, perfecționarea procedurilor anestezice, analgezice și procedurile chirurgicale moderne, împreună cu progresul remarcabil al radioterapiei și mai ales chimioterapiei, sunt motive ce impun actualizarea continuă a strategiei terapeutice în patologia malignă colorectală.

Aria de cercetare a fost extinsă odată cu dezvoltarea biologiei moleculare, descoperind o serie de factori implicați în dezvoltarea tumorilor colorectale maligne precum oncogenele, genele supresoare tumorale, citokinele și anticorpii monoclonali.

Mi-am propus să studiez corelațiile între expresia genică a interleukinei 8 din țesutul colorectal normal și țesutul tumoral în etapa incipientă a schemei terapeutice printr-o prelevare minim-invazivă, precum și între valorile măsurate ale interleukinei 8 în sânge și țesutul tumoral malign colorectal din etapa tratamentului chirurgical.

CAPITOLUL I. NOȚIUNI DE ANATOMIE ALE COLONULUI ȘI RECTULUI

Intestinul gros, ultima parte a tubului digestiv, continuă caudal intestinul subțire, de la valvula ileo-cecală până la anus, care se deschide la exterior la nivelul marginii anale. Are rol în absorbția apei din chimul intestinal, transformând ulterior resturile nedigerabile în materii fecale semisolide care vor fi acumulate și depozitate temporar la nivelul rectului [1].

Embriogeneza

Toate porțiunile intestinului gros sunt de origine endodemică, mai puțin canalul anal care provine din proctodeum, o invaginație la nivelul tuberculului cloacal al ectodermului [2]. Colonul și rectul au la rândul lor origini embriologice diferite. Colonul drept se formează din brațul ascendent al ansei ombilicale (mesenteron) și cuprinde cecul, colonul ascendent și două treimi drepte ale colonului transvers, vascularizate de ramuri ale arterei mezenterice superioare. Colonul stâng se dezvoltă din intestinul terminal și cuprinde treimea stângă a colonului transvers, colonul descendent și colonul sigmoid, toate vascularizate din ramuri ale arterei mezenterice inferioare, în timp ce rectul se dezvoltă din cloacă.

Anatomie descriptivă

Cu o lungime medie cuprinsă între 150 și 180 centimetri, intestinul gros crează o ramă pentru intestinul subțire în porțiunea infracolică a cavității peritoneale și cuprinde mai multe segmente: cecul, apendicele vermiform, colonul ascendent, colonul transvers, colonul descendent și colonul sigmoid, rectul și canalul anal [2].

Peretele intestinului gros este alcătuit din patru tunici. La exterior, tunica seroasă este reprezentată de peritoneu, la nivelul cecului, cadrului colic și a primei porțiuni a rectului, în timp ce la ultima porțiune a rectului avem numai o adventiție, urmează apoi tunica musculară, formată de un strat extern cu fibre longitudinale și un strat intern, cu fibre circulare. Avansând către lumen, penultimul strat, cel submucos, este traversat de vasele sanguine, limfatice și nervi. Tunica mucoasă delimitează lumenul și are o grosime crescută față de intestinul subțire.

Anatomie topografică și chirurgicală

O împărțire anatomo-chirurgicală se poate face prin raportarea segmentelor fixe și a celor mobile. Astfel, porțiunile fixe cuprind colonul ascendent, treimea dreaptă a colonului transvers, colonul descendent și rectul, iar porțiunile mobile sunt reprezentate de cec, cele două treimi stângi ale colonului transvers și sigmoidul. Cecul se află în proximitatea ligamentului inghinal, proiecția colonului ascendent la nivelul peretelui abdominal anterior se face în partea superioară a regiunii inghinale drepte și a flancului drept, proiecția colonului transvers pe peretele abdominal anterior se află în zona hipocondrului drept. Colonul descendent este situat în partea stângă a etajului submezocolic, a carui continuare este făcută de sigmoid și rect ce se termină la flexura anorectală a canalului anal aflată antero-inferior de coccis.

CAPITOLUL II. ONCOGENEZA COLORECTALĂ

Progresia cancerului colorectal de la o singură criptă la polip adenomatos este rezultatul unor modificări genetice complexe. Patologia malignă colorectală este multifactorială, condiționată de factori genetici și de mediu care modulează oncogeneza și progresia bolii, precum obezitatea, fumatul, consumul de carne roșie, consumul excesiv de alcool, predispoziția genetică, boli inflamatorii cronice intestinale.

Cancerul colorectal se poate dezvolta la nivelul mucoasei prin procesul de oncogeneză de novo, marea majoritate a leziunilor având însă ca punct de plecare degenerarea malignă la nivelul unui polip adenomatos. Substratul morfologic este reprezentat de o displazie epitelială la nivelul colonului sau rectului, urmând secvența adenom-carcinom, în care, din cauza unei acumulări progresive de mutații celulare, apare o proliferare necontrolată a celulelor la nivelul criptelor [3].

CAPITOLUL III. MANIFESTĂRI CLINICE, ETAPE DIAGNOSTICE ATITUDINEA TERAPEUTICĂ ÎN CANCERUL COLORECTAL

Ca urmare a dezvoltării lente a tumorii în lumenul intestinului gros, neoplasmul poate evolua lent timp îndelungat fără semne clinice evidente. Manifestări clinice precum tulburări de tranzit persistente (constipație/diaree), sindrom dispeptic, întreruperea tranzitului intestinal, dureri abdominale, prezența sângelui la nivelul materiilor fecale sau manifestări generale nespecifice (precum pierderea în greutate, inapetența, astenia, febra sau

subfebrilități) pot orienta stabilirea diagnosticului și a examenelor complementare ce trebuie realizate [4].

Diagnosticul de certitudine, stadiul, gradul de diferențiere celulară, gradul de infiltrare al tumorii dincolo de limitele aparente și prognosticul bolii este pus însă în urma examenului anatomopatologic. Prin examene de imunohistochimie se poate demonstra la nivel tumoral prezența unor antigene noi sau pierderea unor antigene normale.

Indicația pentru tratamentul chimioterapic este pusă în special în funcție de stadiul tumorii în momentul diagnosticului și începe cu stadiul II, folosind molecule variate precum oxaliplatina, capecitabina, acid folinic, bevacizumab etc, în diverse scheme terapeutice, ca tratament adjuvant sau neoadjuvant, în funcție de stadiul neoplaziei în momentul diagnosticului. În cazul localizărilor rectale, radioterapia sau radiochimioterapia preoperatorie este de preferat față de radioterapia postoperatorie datorită unei mai bune evaluări și a toxicității reduse [5-9].

În ceea ce privește tratamentul chirurgical al cancerului de colon, tehnica diferă în funcție de localizarea tumorii și stadiul în care este operată. Aceasta trebuie să respecte însă anumite limite de siguranță oncologică: exereza distală și proximală de minim 2 centimetri, exereza în bloc a mezorectului sau a mezocolonului cu reperarea pediculului vascular pentru obținerea unei limfadenectomii corecte.

CAPITOLUL IV. LOCUL MARKERILOR IN CANCERUL COLORECTAL

Un biomarker este definit ca o caracteristică ce poate fi măsurată și apreciată în mod obiectiv pentru a evalua un proces fiziologic, un proces patologic sau un răspuns farmacologic la o intervenție terapeutică [10].

Faptul că celulele canceroase exprimă la suprafața lor receptori pentru mediatorii inflamației este deja demonstrat în numeroase studii internaționale. Mai multe citokine, cum ar fi factorul inhibitor al migrației macrofage (MIF), TNF-a, interleukina 6, interleukina 17, interleukina 12, interleukina 23, interleukina 10 și TGF- β au fost legate atât de cancerul „in vitro”, cât și uman și sunt considerate că pot promova sau inhiba dezvoltarea tumorală.

Un important rol în patogeneza cancerului colorectal îl are și interleukina 8. Interleukina 8 este un membru al familiei de chemokine, responsabilă de atragerea și activarea neutrofilelor în timpul reacțiilor imune [11] și, prin urmare, este capabilă să inducă o reacție inflamatorie [12], fiind una dintre cele mai semnificativ modificate chemokine în cancerul colorectal [13]. Aceasta este produsă de unele celule maligne, inclusiv celulele cancerului colorectal [14] și reprezintă un regulator al micromediului tumoral, care poate contribui la progresia tumorii [15].

CERCETAREA PERSONALĂ

CAPITOLUL V. OBIECTIVELE LUCRĂRII. LOTURILE STUDIATE

Cancerul colorectal, unul dintre cele mai frecvente tumori maligne, reprezintă o patologie problematică în cadrul sistemelor de sănătate publică.

Scopul principal al acestei lucrări este de a studia factori de prognostic ce ar deschide posibilitatea utilizării unor noi ținte terapeutice.

Pentru îndeplinirea acestui scop am analizat interleuchina 8 - un membru al familiei de chemokine, capabilă să inducă o reacție inflamatorie, depistând dacă există corelații între valorile măsurate ale interleukinei 8 în sânge și țesutul tumoral malign colorectal, precum și între expresia genică a interleukinei 8 din țesutul colorectal normal și țesutul tumoral.

Pentru cercetarea scopului propus am realizat un studiu retrospectiv în care am utilizat un grup de 108 pacienți ce au fost internați între anii 2012 – 2015 în Clinica II Chirurgie a Spitalului Clinic Județean Craiova.

Pacienții eligibili pentru studiu au fost bărbați și femei, cu vârste cuprinse între 18 și 90 ani, diagnosticați cu tumori primare colorectale, fără a fi beneficiat de un tratament neoadjuvant radioterapeutic sau chimioterapeutic în acest interval.

Cercetarea științifică propusă a fost astfel structurată în mai multe etape:

- studiul imunoenzimatic cu reactivi marcați pentru care am utilizat un prim subgrup de 68 de pacienți în care am evaluat valorile enzimaticale ale interleuchinei 8 în sânge și perechile respective de țesut tumoral, din etapa tratamentului chirurgical.

- studiul genetic prin care am încercat evaluarea expresiei genice a interleuchinei 8 în țesutul tumoral și peritumoral, căutând eventuale asocieri clinico-patologice utilizând un lot final de 19 pacienți din subgrupul de 40, aflați într-o etapă incipientă a schemei terapeutice a cancerului colorectal.

CAPITOLUL VI. ANALIZA IMUNOENZIMATICĂ

Pentru studiul imunoenzimatic cu reactivi marcați a fost utilizat un subgrup de 68 de pacienți, spitalizați în Clinica II Chirurgie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova din România între anii 2012 și 2013.

De la fiecare pacient au fost recoltate simultan, pe parcursul intervenției chirurgicale, două probe: o probă de sânge venos periferic și o probă de țesut tumoral. Prezența proteinei interleukinei 8 la nivelul supernatantului a fost evaluată folosind tehnica Bradford descrisă în protocolul Bio-Rad Protein Assay.

Valorile interleukinei 8 au fost măsurate utilizând tehnica ELISA Sandwich folosind kitul Human IL-8 ELISA produs de Krishgen BioSystem din Spain, în prezența

concentrațiilor standard. Pentru interpretarea rezultatelor s-a utilizat softul specializat pentru tehnica ELISA, Magellan IVD în versiunea 5.4 produs de DIGIREAD Software care a determinat absorbția medie pentru fiecare set de standarde și eșantioane duplicate.

Valorile interleukinei 8 în țesutul tumoral

Valoarea minimă a interleukinei 8 în supernatantul tumoral pentru pacienții aflați în stadiul II TNM al cancerului colorectal a fost de 9,200 picograme/mililitru iar valoarea maximă de 60,100 picograme/mililitru. În cazul pacienților aflați în stadiul III TNM, valoarea minimă a fost de 5,300 picograme/mililitru și valoarea maximă de 150,000 picograme/mililitru. Pentru pacienții din stadiul IV TNM s-au măsurat valori minime de 15,900 picograme/mililitru și maxime de 320,000 picograme/mililitru. Se poate observa o tendință crescătoare progresivă în funcție de stadiul TNM.

Valorile interleukinei 8 în sânge

În grupul pacienților aflați în stadiul II TNM, valoarea minimă a interleukinei 8 măsurată în sânge a fost de 6,900 picograme/mililitru și valoarea maximă de 33,600 picograme/mililitru. Valoarea minimă a interleukinei 8 pentru pacienții aflați în stadiul III TNM diagnosticați cu cancer colorectal a fost de 7,200 picograme/mililitru iar valoarea maximă de 80,100 picograme/mililitru. Pentru pacienții din stadiul IV TNM s-au măsurat valori minime de 18,300 picograme/mililitru și maxime de 210,000 picograme/mililitru. De asemenea și în cazul valorilor IL-8 măsurate în sânge se poate observa o tendință crescătoare progresivă raportată la stadiul TNM.

Valoarea mediană a interleukinei 8 pentru pacienții aflați în stadiul II TNM al cancerului colorectal a fost de 21,35 pg/ml în ser și 32,05 pg/ml în supernatantul tumoral, o diferență semnificativă statistic. Pentru compararea rezultatelor măsurătorilor efectuate în ser și în supernatantul tumoral, am folosit testul Wilcoxon pentru suma rangurilor pereche și am observat diferențe semnificative statistic, în toate cazurile valorile din ser fiind mai mici decât valorile din țesutul tumoral. Pentru probele din stadiul II am obținut o probabilitate $p=0,00129$, pentru stadiul IV probabilitatea a fost $p=0,00252$, iar în stadiul IV semnificația statistică a fost și mai mare cu o probabilitate $p=3,62 \times 10^{-7}$ mai mic decât 0,001.

CAPITOLUL VII. ANALIZA GENETICĂ

Scopul studiului a fost de a evalua expresia genică a interleukinei 8 în țesutul tumoral și peritumoral, căutând eventuale asocieri clinico-patologice. Studiul a fost efectuat în conformitate cu legislația română de bioetică.

Au fost incluși inițial 40 de pacienți diagnosticați cu tumori primare colorectale în urma evaluării endoscopice și eco-endoscopice la Centrul de Cercetare în Gastroenterologie și Hepatologie din cadrul Universității de Medicină și Farmacie din Craiova, între ianuarie 2014 și mai 2015.

Din cei 40 de pacienți incluși inițial, după evaluarea integrității ARN, numai 19 probe au fost selectate întru-cât respectau criteriile de incluziune și au avut o cantitate pură de ARN.

Probele au fost prelucrate în două etape: prima, revers transcripția începută cu sintetizarea ADN-ului complementar, iar a doua, amplificarea Real-Time PCR, când rezultatele sunt evaluate cantitativ din ADN-ul complementar utilizând tehnologia TaqMan.

Analiza qRT-PCR a tuturor probelor a evidențiat prezența genică a interleukinei 8 atât în țesutul tumoral cât și în țesutul normal. S-au înregistrat valori crescute în biopsiile țesutului colic neinvadat tumoral în comparație cu biopsiile pereche din țesut tumoral.

Prin utilizarea testului Mann-Whitney, este comparată media expresiilor relative ale genei interleukinei 8 din țesutul tumoral raportată la stadiile TNM corespunzătoare. Probabilitatea obținută ($p=0,235$) fiind semnificativă statistic, ne permite să afirmăm că există o corelație între valorile genei interleukinei 8 din țesut tumoral și stadiul TNM corespunzător.

Există o corelație semnificativă statistic în valorile expresiei genice ale interleukinei 8 din țesutul normal în funcție de fiecare grad de diferențiere în parte, însă această corelație nu se păstrează și pentru probele din țesutul tumoral. În studiul efectuat am evidențiat că expresia genică a interleukinei 8 este scăzută în țesutul tumoral și crescută în țesutul normal.

CAPITOLUL VIII. CONCLUZII

Concluzii analiză imunoenzimatică

Valorile interleukinei 8 măsurate în ser cât și cele măsurate în tumoră sunt crescute direct proporțional și se corelează cu stadializarea TNM.

Pentru nivelele interleukinei 8 serice, am obținut diferențe semnificative statistic între stadiul II și IV, precum și între stadiul III și IV, dar nu între stadiul II și III.

Pentru nivelurile interleukinei 8 tumorale, diferențele au fost semnificative între toate stadiile din lotul de pacienți, adică între stadiul II și III, între stadiul II și IV, precum și între stadiul III și IV.

Valorile interleukinei 8 măsurate în supernatantul tumoral au fost mai mari decât valorile interleukinei 8 măsurate din ser, fapt ce dovedește că în microsfera tumorală interleukina 8 este produsă de celulele maligne, dar și de către celulele normale (celulele endoteliale, neutrofile și macrofage). Valorile maxime ale interleukinei 8 în tumorile colorectale aflate în stadiul IV TNM, atât în ser cât și în supernatantul tumoral, demonstrează că această citokină se corelează cu progresia tumorală și creșterea potențialului de metastazare.

Pentru cancerul colorectal, interleukina 8 reprezintă un factor de prognostic negativ și trebuie monitorizată, valorile crescute sugerând o evoluție nefavorabilă. Interleukina 8 reprezintă o țintă terapeutică în cancerul colorectal, iar terapiile ce reușesc diminuarea valorilor ei pot înmănușății evoluția pacienților.

Reducerea expresiei interleukinei 8 în cancerul colorectal folosind metode terapeutice pentru blocarea producerii acesteia ar putea îmbunătăți prognosticul și evoluția bolii. Întrucât riscurile de interacțiune cu sistemul imun al pacienților sunt imprevizibile, varianta nanoparticulelor poate reduce expresia interleukinei 8 în cancerul colo-rectal, reducând astfel și riscul creșterii tumorale.

Concluzii analiză genetică

În studiul efectuat am evidențiat că expresia genică a interleukinei 8 este scăzută în țesutul tumoral și crescută în țesutul normal. Rezultatele se concentrează pe o analiză calitativă a expresiei interleukinei 8 în cancerele colorectale. Biopsiile prelevate au fost mici și uneori au impus excluderea lor din studiul genetic.

Studiul nostru este primul care evaluează expresia genică a interleukinei 8 utilizând biopsii tumorale endoscopice proaspăt congelate, o metodă care permite o evaluare precoce a markerului prognostic. Teoretic, erorile dependente de calitatea materialului biopsiat au fost minime pentru studiul nostru, întrucât am utilizat biopsii proaspete congelate. Valorile diferite obținute în prezentul lot față de alte studii din literatură pot fi justificate de modul diferit de prelevare și tipul probelor biologice utilizate.

Rezultatele obținute în acest model nu ne permit să facem corelații semnificativ statistice care să transforme interleukina 8 într-un factor de prognostic precoce.

Studii comparative ar trebui să clarifice dacă expresia genei interleukinei 8 ar trebui raportată la probe prelevate intra-operator cu grosime integrală a peretelui colorectal. Alte studii sunt necesar pentru compararea diferențelor dintre valorile biopsiilor prelevate endoscopic și biopsiilor intra-operatorii.

Menționăm adresabilitatea scăzută a pacienților în țara noastră, pentru că, deși tehnologia actuală de evaluare diagnostică, colonoscopie, ecoendoscopie sau metode imagistice, ne-ar fi permis descoperirea unor tumori aflate în stadiul I, nu am reușit să includem în lot nici un caz din această categorie.

Un studiu cu un lot mai mare și omogen ar fi necesar pentru acuratețea concluziilor. Alte studii ample sunt necesare pentru cohorte extinse pentru a clarifica expresia genică a interleukinei 8 în tumori, rezultatele actuale fiind contradictorii. Rezultatele obținute reprezintă un punct de plecare pentru cercetarea unor noi markeri celulari ce ar trebui incluși în protocoalele de evaluare a tratamentului acestei patologii.

Bibliografie selectivă:

1. Moore K., Dalley A., Agur A.M. : Anatomie clinică. Fundamente și aplicații. Ed.: Cuculici Gh, Gheorghiu A - Ed. A 6-a, rev.- 2012, Editura Medicală Callisto, București, 246-253.
2. Fritsch H, Kuhnel W. Atlas de poche d'anatomie. Tome 2.Visceres 4eme edition. Appareil digestif, 2007, Flammarion Medecine-Sciences, Paris;202-212.
3. Tanaka T. Colorectal carcinogenesis: Review of human and experimental animal studies. J Carcinog. 2009;8:5.
4. Hewitson P, Glasziou P, Irwig L, Towler B, Watson E. Screening for colorectal cancer using the faecal occult blood test, Hemoccult. Cochrane Database Syst Rev. 2007 Jan 24; (1):CD001216.
5. Falcone A, Ricci S, Brunetti I, Pfanner E, Allegrini G, Barbara C, Crinò L, Benedetti G, Evangelista W, Fanchini L, Cortesi E, Picone V, Vitello S, Chiara S, Granetto C, Porcile G, Fioretto L, Orlandini C, Andreuccetti M, Masi G; Gruppo Oncologico Nord Ovest.. Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nord Ovest. J Clin Oncol 2007;25:1670-6.
6. Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rödel C, Wittekind C, Fietkau R, Martus P, Tschmelitsch J, Hager E, Hess CF, Karstens JH, Liersch T, Schmidberger H, Raab R; German Rectal Cancer Study Group. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. N Engl J Med. 2004;351(17):1731-402004.
7. Sauer R, Liersch T, Merkel S, Fietkau R, Hohenberger W, Hess C, Becker H, Raab HR, Villanueva MT, Witzigmann H, Wittekind C, Beissbarth T, Rödel C. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: results of the German CAO/ARO/AIO-94 randomized phase III trial after a median follow-up of 11 years. J Clin Oncol. 2012;30(16):1926-33.
8. Kapiteijn E, Marijnen CA, Nagtegaal ID, Putter H, Steup WH, Wiggers T, Rutten HJ, Pahlman L, Glimelius B, van Krieken JH, Leer JW, van de Velde CJ; Dutch Colorectal Cancer Group. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. N Engl J Med. 2001;345(9):638-46.
9. Sebag-Montefiore D, Stephens RJ, Steele R, Monson J, Grieve R, Khanna S, Quirke P, Couture J, de Metz C, Myint AS, Bessell E, Griffiths G, Thompson LC, Parmar M. Preoperative radiotherapy versus selective postoperative chemoradiotherapy in patients with rectal cancer (MRC CR07 and NCIC-CTG C016): a multicentre, randomised trial. Lancet. 2009;373(9666):811-20.
10. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, Stein KD, Alteri R, Jemal A. Cancer Treatment and Survivorship Statistics, 2016. CA Cancer J Clin. 2016;66(4):271–289.
11. Neuman MG. Immune dysfunction in inflammatory bowel disease. Transl Res; 2007;149(4):173-86.
12. Bărbălan A, Nicolaescu AC, Măgăran AV, Mercuț R, Bălășoiu M, Băncescu G, Șerbănescu MS, Fulger Lazar O, Săftoiu A. Immunohistochemistry predictive markers for primary colorectal cancer tumors: where are we and where are we going? Rom J Morphol Embryol. 2018;59(1):29–42.
13. Terada H, Urano T, Konno H. Association of interleukin-8 and plasminogen activator system in the progression of colorectal cancer. Eur Surg Res. 2005;37(3):166-72.
14. Rubie C, Frick VO, Pfeil S, Wagner M, Kollmar O, Kopp B, Graber S, Rau BM, Schilling MK. Correlation of IL-8 with induction, progression and metastatic potential of colorectal cancer. World J Gastroenterol.;2007;13(37):4996–5002.
15. Lam K, Pan K, Linnekamp JF, Medema JP, Kandimalla R. DNA methylation based biomarkers in colorectal cancer: A systematic review. Biochim Biophys Acta.; 2016;1866(1):106-20.