

UNIVERSITATEA DE MEDICINA SI FARMACIE CRAIOVA



TEZA DE DOCTORAT

(rezumat)

PARTICULARITĂȚI CLINICOPATOLOGICE ȘI DE PROGNOSTIC ÎN CANCERUL COLORECTAL

Coordonator Doctorat:

Prof. Univ. Dr. Ion Georgescu

Student-Doctorand

Dr. Sebastian Constantin Toma

CRAIOVA

2018

Cuprins Selectiv al Tezei de Doctorat

Partea Generală – Stadiul Cunoașterii

1. Introducere	3
2. Carcinogeneza în cancerul colorectal.....	3
3. Diagnostic pozitiv	4
4. Diagnostic histopatologic.....	4
5. Factori de prognostic	5

Partea Specială.....

Planul tezei de doctorat	5
1. Materiale și Metode	6
1.1 Protocol FOBT.....	6
1.2 Protocol Colonoscopie.....	6
1.3 Studiu microdensității vasculare.....	7
1.5 Studiul serologic	7
2. Rezultate și Discuții.....	7
3. Concluzii	11
Bibliografie Selectivă	13

Cuvinte Cheie: *cancer colorectal, factori de prognostic, biomarkeri*

PARTEA GENERALĂ

(Stadiul Cunoașterii)

1. Introducere

Cancerul colorectal (CCR) reprezintă una dintre malignitățile cel mai frecvent întâlnite, fiind al doilea cel mai comun tip de cancer la femei și al treilea cel mai comun la bărbați. Deși au fost obținute numeroase progrese în tratamentul oncologic și chirurgical sau prin implementarea unor programe de screening, CCR se plasează în continuare pe primele locuri în rândul cauzelor maligne determinate de deces. Studiile epidemiologice au demonstrat existența unei variații majore în distribuția geografică a incidenței CCR, cu un risc semnificativ mai mare în țările dezvoltate, acesta fiind clar asociat cu obiceiurile alimentare și stilul de viață.

Această afecțiune are un caracter lent progresiv, se dezvoltă încet, de-a lungul anilor, chiar deceniilor. Majoritatea cazurilor de CCR debutează la nivelul unor polipi aflați la nivelul epitelului colonului și rectului, dar există și alte cauze predispozante precum bolile inflamatorii intestinale și anumite modificări genetice ereditare. Cu toate că majoritatea cazurilor prezintă și un istoric familial al bolii, influența factorilor de mediu, microbiota intestinală, respectiv procesul de inflamație cronică asigură un risc crescut în apariția CCR. Factori de risc în apariția CCR au fost studiați numeroși factori de risc care ar putea fi incriminați de apariția bolii. Pornind de la dietele alimentare până la prezența azotului cu facilitarea formării unor compuși toxici ce se pot lega de ADN-ul uman, la acizii biliari, tutun, alcool, și chiar definirea leziunilor precursoare (polipi), CCR reprezintă în continuare o afecțiune ce necesită o atenție deosebită datorită mortalității crescute.

2. Carcinogeneza în cancerul colorectal

CCR poate apărea prin unul sau o combinație a trei mecanisme, și anume instabilitatea cromozomială (CIN), fenotipul metilator al insulei CpG (CIMP), și instabilitatea microsatelită (MSI). Călea CIN clasică începe cu achiziția de mutații în polipoza adenomatoasă coli (APC), urmată de activarea mutațională a oncogenei KRAS și inactivarea genei de supresie tumorală, TP53.

Celulele posedă mii de receptori de suprafață, dintre care cei cu importanță în dezvoltarea CCR sunt receptori ai factorilor de creștere. Un receptor al unui factor de creștere constă în cel puțin o proteină care este produsul a diverse proto-oncogene. Receptorii pentru EGFR sunt localizați pe suprafața celulară, iar semnalizarea plecată de la acest nivel spre nucleu este activată prin legarea liganzilor specifici. Principalii liganzi sunt factorul de creștere epidermal (EGF) și TGF-alfa. Semnalizarea crescută prin VEGFR a fost observată în cazul CCR, iar terapia cu anticorpi monoclonali este capabilă să crească semnificativ rata de supraviețuire fără progresie în CCR metastatic.

3. Diagnostic pozitiv

CCR se dezvoltă pe o perioadă îndelungată și poate fi prezent chiar cu 5 ani înainte de a fi simptomatic. Pacienții prezintă de cele mai multe ori sângerări oculte de la nivelul tumorilor, iar rata de sângerare se mărește odată cu creșterea tumorală și a nivelului de ulcerare. Manifestări clinice sunt influențate de localizarea formațiunii primare astfel că tumorile colonului proximal cresc mai mult în dimensiuni comparativ cu cele localizate la nivelul colonului stâng. Colonoscopia reprezintă investigația imagistică de bază pentru explorarea colonului, cu toate că nu există date din studii prospective care să indice acest lucru. Primele date referitoare la scăderea incidenței CCR prin depistarea precoce și diagnostic cu ajutorul colonoscopiei au fost prin câteva studii tip cazcontrol care a subliniat scăderea ratei a incidenței.

4. Diagnostic histopatologic

Mai mult de 90% din carcinoamele colorectale sunt adenocarcinoame cu origine în celulele epiteliale ale mucoasei din această zonă. Alte tipuri rare de carcinoame colorectale includ tumori neuro-endocrine, cu celule scoamoase, adenoscuamoase și carcinoame nediferențiate. Adenocarcinomul tipic este caracterizat de formare glandulară, ce reprezintă baza pentru stadializarea histologică a tumorii. În adenocarcinomul bine diferențiat, peste 95% din volumul tumoral este reprezentat de țesut glandular. Adenocarcinomul moderat diferențiat are 50-95% diferențiere glandulară, iar cel slab diferențiat este în general solid, cu mai puțin de 50% țesut glandular. În practică cele mai multe adenocarcinoame colorectale (aproximativ 70%) sunt diagnosticate ca și carcinoame cu diferențiere moderată. Adenocarcinoamele bine diferențiate reprezintă 10%, iar cele nediferențiate 20%.

5. Factori de prognostic

Detectarea CCR într-un stadiu incipient alături de un tratament chirurgical corespunzător poate oferi pacientului vindecarea. Cu toate acestea, pentru ca acest lucru să fie posibil este nevoie fie de dezvoltarea unor noi metode revoluționare de tratament fie de a dezvolta programe de screening care să rezulte într-un număr cât mai mare de cazuri noi depistate dar și să identifice acei pacienți care pot beneficia de tratament adjuvant și un program intensiv de supraveghere post-tratament. Prin urmare este nevoie de biomarkeri cât mai specifici și sensibili care sunt capabili să identifice pacienții în care CCR este probabil să recidiveze, progreseze și/sau să metastazeze. Până în prezent examenul histopatologic reprezintă cea mai importantă metodă de a evalua prognosticul bolii după rezecție chirurgicală (în stadiile II și III). Cu toate că stadializarea TNM rămâne cel mai puternic marker predictor, alți determinanți histopatologici sau non-histopatologici ar trebui considerați, mai ales atunci când tratamentul curativ nu mai reprezintă o opțiune sau pentru că extinderea tumorii nu reflectă neapărat și biologia acesteia.

Cu toate că de multă vreme s-a luat în discuție existența unei legături între inflamație și cancer, demonstrarea acestei punți a fost realizată recent. Citokinele și chemokinele produse de celulele tumorale, dar mai ales de celulele culese de micromediul tumoral sunt implicate în dezvoltarea tumorală prin perturbarea diferențierii celulare și ca suport pentru supraviețuirea celulelor canceroase.

Partea Specială

Planul tezei de doctorat

Studiile efectuate au urmărit caracterizarea pacienților cu tumori colorectale, din punct de vedere clinic, imagistic și histopatologic precum și utilizarea unor tehnici moderne neinvazive ce pot oferi beneficii în diagnosticul precoce sau evolutiv al CCR. Corelarea datelor obținute au propus crearea unui profil al pacientului susceptibil de a dezvolta CCR, utilizând metodele clasice de diagnostic, cu accent pe explorarea morfologică dar și evaluarea unor factori de prognostic care pot indica evoluția bolii și implicit schimba atitudinea terapeutică. Implementarea unor noi metode atât în prevenția bolii cât și în exprimarea evoluției nefavorabile oferă medicului și pacientului o nouă deschidere către înțelegerea și tratamentul CCR.

- S-a urmărit evaluarea pacienților cu tumori colorectale din punct de vedere clinic, paraclinic și anatomopatologic în urma intervenției chirurgicale fie în scop curativ sau paliativ;
- Evidențierea caracterelor morfologice ale tumorilor colorectale întâlnite cu impact asupra evoluției bolii pacientului;
- Evaluarea angiogenezei CCR prin caracterizarea microdensității vasculare ca factor de predicție a evoluției CCR;
- Identificarea și corelarea cu stadiul incipient sau tardiv al CCR a unor noi markeri de diagnostic și prognostic ai pacienților cu CCR;

1. Materiale și Metode

Studiul efectuat a fost unul prospectiv și a cuprins 228 pacienți diagnosticați în cadrul Clinicii de Gastroenterologie și Chirurgie I a Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova, precum și din Clinica de Chirurgie a Spitalului Județean de Urgență Ploiești. Pacienții au fost incluși pe o perioadă de 3 ani, între 1 ianuarie 2013, respectiv 31 decembrie 2015.

Diagnosticul de CCR a fost realizat prin metode imagistice, de referință fiind colonoscopia sau în urma unor complicații ce au necesitat intervenție chirurgicală de urgență.

1.1 Protocol FOBT

Pe parcursul celor 3 ani, în Clinica de Gastroenterologie a SCJU Craiova, respectiv Chirurgie Generala Ploiești, 32 de persoane au fost diagnosticate cu CCR prin colonoscopie cu examen histopatologic ulterior, în urma efectuării unui test de hemoragii oculte având rezultat pozitiv. Cu toate acestea numărul pacienților care a fost supus colonoscopiei datorita FOBT a fost 52, dar majoritatea leziunilor au fost fie polipi colonici, angiodisplazii, diverticuli colonici sau chiar boli inflamatorii intestinale.

1.2 Protocol Colonoscopie

Pregătirea pentru colonoscopie a presupus restricție alimentară și utilizarea de soluții electrolitice de polietilenglicol – PEG (Fortrans) cu administrare în 2 timpi, iar unele cazuri au beneficiat și de clisme evacuatorii. Soluția de pregătire a presupus administrarea secvențială a 3 litri pe parcursul a 6 ore, respectiv 1 l pe parcursul a 2 ore, pentru a se obține o mai bună curățare a colonului.

În urma explorărilor imagistice și de confirmare a diagnosticului prin analiza țesutului a fost realizată stadializarea TNM și stabilită indicația operatorie fie cu intenție curativă în cazul absenței determinărilor secundare la distanță sau peritoneale, fie în scop paliativ.

1.3 Studiu microdensității vasculare

Au fost selectați 72 de pacienți din cei 288 de la care au fost recoltate trei probe de țesut. O probă selectată pentru imunohistochimie și extrasă cu atenție în așa fel încât să cuprindă toate straturile colonului și rectului. Pentru expresia genică, prima probă a fost colectată din țesut epitelial, evitându-se țesutul necrotic, iar cea de-a doua probă a fost selectată din țesut normal din marginile de rezecție.

1.5 Studiul serologic

Din cei 288 de pacienți diagnosticați cu CCR au fost selectați 35 de pacienți recent diagnosticați cu tumori colorectale. S-a urmărit ca aceștia să se afle în stadii evolutive diferite ale bolii, astfel că în urma explorărilor imagistice au fost incluși 15 pacienți aflați într-un stadiu CCR localizat fără determinări la distanță depistate imagistic și 20 de pacienți cu metastaze la distanță. Nu au fost incluși pacienți cu afecțiuni autoimune asociate, aflați în tratament oncologic de orice natură sau pe alte tratamente biologice.

Pentru lotul control au fost selectați 32 de pacienți care au efectuat colonoscopia în Clinica de Gastroenterologie a Spitalului Clinic de Urgență Craiova și au fost depistați cu polipi adenomatoși după examenul histopatologic dat de biopsii de rezecție acestora.

Au fost recoltate probe de sânge preoperator care au fost depozitate la -80°C sau -20°C în funcție de caz până la efectuarea măsurătorilor.

Pentru analiza VEGF și IL-6 s-a folosit un kit specific bazat pe tehnica ELISA sandwich care a fost utilizat conform indicațiilor distribuitorului. Densitatea optică a fost măsurată pe un cititor de placă de microtitrare la 450 nm.

IL-8 și IL-17 a urmărit tot tehnica ELISA sandwich folosindu-se kit-ul Human IL-8 Elisa (Krishgen BioSystem Spain) respectiv human IL-17 Elisa (R&D Systems Minneapolis, MN).

Valorile VEGF, IL-6, IL-8, IL-17 au fost transpuse în pg/ml.

2. Rezultate și Discuții

Studiul de față a avut un caracter prospectiv, fiind desfășurat pe o durată de 3 ani și a încercat să aducă în discuție aspecte ale CCR care pot influența evoluția și tratamentul acestuia.

Pornind de la metode screening, până la sublinierea unei populații cu risc de a dezvolta CCR, testarea unor factori de prognostic neinvazivi sau metode de imunohistochimie și genetică, a fost subliniat încă o dată necesitatea unei dezvoltări continue a metodelor de diagnostic și tratament a tumorilor cu localizare colonică.

Introducerea în diferite țări a unor metode screening neinvazive de costuri reduse bazate pe testarea hemoragiilor oculte din scaun a oferit o nouă oportunitate pacienților de a se putea testa fără eforturi semnificative. Utilizarea acestor tehnici în diagnosticul precoce, fie că discutăm de FOBT, FIT, teste bazate pe ADN sau ARN fecal, markeri ce utilizează proteine precum calprotectina fecală sau mai nou introduși markeri bazați pe microbiomul fecal pot ridica suspiciunea de CCR.

Studiul efectuat a cuprins și un lot de pacienți diagnosticați cu tumori colonice pe baza utilizării gFOBT. Cele 32 de cazuri care au fost incluse în studiu, având diagnosticul de CCR au efectuat testul la recomandarea medicului sau în urma simptomatologiei prezente. De remarcat este că toți pacienții care au efectuat acest test erau din mediul urban și aveau peste 50 de ani, ceea ce reprezintă vârsta de screening prin colonoscopie adoptată în SUA. Astfel se susține în continuare necesitatea implementării programelor de screening la persoanele de 50 de ani fie și prin metode neinvazive.

Procesul de carcinogeneză în CCR este unul secvențial care debutează datorită unei mutații genetice, urmată de proliferare celulară până la dezvoltarea adenoamelor mici, ulterior cu apariția zonelor de displazie de grad scăzut, înalt și adenocarcinom. Utilizarea colonoscopiei atât ca metodă de screening dar ca și opțiune terapeutică a permis scăderea incidenței apariției CCR. În acest studiu, colonoscopia a fost considerată metoda de referință pentru diagnosticul imagistic și de certitudine cu prelevare de biopsii a tumorilor de colon. Identificarea și localizarea tumorilor a permis o mai bună caracterizare și indicație chirurgicală rapidă în unele cazuri. Pe de altă parte un alt aspect important a fost efectuarea colonoscopiei conform criteriilor Societății Europene de Endoscopie Digestivă care presupun identificarea imagistică a orificiului apendicular și vizualizării ileonului terminal. Această atitudine poate să și confirme astfel numărul mare de tumori localizate la nivelul colonului drept, care a depășit în studiul de față tumorile de colon stâng sau rect.

Incidența CCR variază cu vârsta. Studiul efectuat evidențiază că incidența cea mai mare este la persoanele peste 55 de ani, vârful atins în lotul studiat fiind între 60 și 70 de ani, ceea ce

poate sugera că factorii etiopatogenici pot avea un efect cumulativ. Se pare că odată cu înaintarea în vârstă crește riscul dezvoltării CCR cu precădere în zonele urbane, luându-se în considerare și asocierea alimentației. În studiu doar 28 de pacienți au fost diagnosticați cu tumori colonice sau rectale înaintea pragului de 50 de ani, comparativ cu alte zone ale lumii unde incidența este de peste 90% după vârsta de 40 de ani. Trebuie remarcat că în acest studiu nu au fost incluși pacienți diagnosticați cu tumori apărute în urma unor boli inflamatorii intestinale sau sindroame polipozice genetice.

În ceea ce privește sexul pacienților s-a observat că bărbații au un risc mai mare de a dezvolta CCR față de femei cu un raport ce variază de la 1,2/1 la 1,7/1 B/F 1,2/1. Acest lucru s-a confirmat și în studiu prin faptul că peste jumătate din pacienții diagnosticați cu CCR au fost bărbați. O explicație privind incidența scăzută la femei ar fi creșterea nivelului hormonilor feminini care se asociază cu un risc scăzut de a dezvolta CCR și chiar o evoluție favorabilă în cazul apariției bolii.

Un factor de prognostic negativ în evoluția CCR îl reprezintă diagnosticul în stadiul de complicații ce necesită intervenție chirurgicală imediată. Cea mai întâlnită complicație o reprezintă stenoza, întâlnită mai ales la nivelul colonului stâng cu precădere flexura splenică și sigmoid, fapt întâlnit și în studiul de față. În afară de aceasta am întâlnit și câteva cazuri de perforații, tromboză arterială etc.. Pacienții care sunt supuși unei intervenții chirurgicale pentru o complicație a unei tumori colonice asociază o rată scăzută de supraviețuire, deoarece aceste cazuri de cele mai multe ori sunt asociate cu boli avansate nu doar loco-regional ci și la distanță și prezintă în același timp o rată crescută de recădere. Un studiu comparativ pe 5 ani care urmărea chirurgia de urgență față de cazurile selectate a evidențiat o medie de supraviețuire de 59 de luni față de 82 de luni.

Simptomatologia este și ea asociată cu o evoluție negativă a bolii, în special atunci când este ignorată mult timp. În cazurile prezentate simptomul dominant au fost durerile abdominale pentru majoritatea localizărilor, fiind urmat de instalarea recentă a tulburărilor de tranzit. S-a observat o incidență crescută a cazurilor diagnosticate într-un stadiu avansat fie ca boala locoregională avansată fie prin prezența determinărilor secundare. Pe lângă acestea un alt factor important în evoluția bolii pare să fie dimensiunea tumorală, astfel că dimensiunea este de cele mai multe ori direct proporțională și cu prezența determinărilor secundare.

Utilizarea markerilor tumorali CEA și CA 19-9 în diagnosticul CCR este controversată. Aceștia reprezintă indicatori fideli în cazul recurenței bolii după instituirea tratamentului oncologic sau chirurgical și nu au valori semnificative în diagnostic decât în cazul în care au valori foarte mari. CEA este în prezent markerul tumoral cu utilitatea cea mai mare în caz de recurență a bolii după rezecția tumorală. În același timp s-a observat și o incidență crescută a CA 19-9, respectiv CEA în cazul diagnosticului per-primam al CCR asociat determinărilor secundare la distanță indiferent de natura lor [119]. Acest lucru este confirmat și în studiul de față cu valori semnificative statistic ale markerilor tumorali în asociere cu CCR avansat cu metastaze hepatice, pulmonare, cerebrale și ganglionare la distanță.

Stadializarea TNM și tipul histologic reprezintă actual factorii de prognostic negativi cel mai utili în evoluția CRC. Acest studiu a evidențiat că majoritatea cazurilor au fost diagnosticate într-un stadiu deja avansat fie locoregional sau la distanță. Acest lucru poate să se asocieze lipsei de educație și informare a pacienților, ceea ce determină o prezentare tot mai târzie la medic cu consecințe importante în evoluția bolii.

Dezvoltarea tumorilor necesită apariția unei rețele noi de vase de neoformație. Procesul de metastazare pare să fie corelat cu o densitate vasculară crescută, prin urmare o eventuală inhibare a angiogenezei poate conduce la stoparea creșterii tumorale dar și în diminuarea procesului de diseminare tumorală.

Evaluarea angiogenezei reprezintă o țintă importantă a strategiilor actuale de diagnostic și tratament deoarece este considerată baza viitoarelor tratamente oncologice, deoarece printr-un posibil control al dezvoltării vaselor poate fi monitorizată evoluția bolii. Vasele noi formate pot fi exprimate prin celule endoteliale precum CD 31, CD 34, CD105. Densitatea microvasculară în schimb poate fi evaluată prin tehnici imunohistochimice și poate fi utilizată ca un factor de prognostic pentru evoluția bolii către stadiul metastatic.

Inflamația cronică oferă un risc crescut de a dezvolta CCR. Citokinele proinflamatorii și factorul de necroză tumorală au fost sugerate ca având legătură cu dezvoltarea tumorală în procesul de carcinogeneză. Studiul de față a cuprins și evaluarea imunologică ca factori de prognostic în diagnosticul și evoluția CCR. IL-6, IL-8, IL-17, VEGF au fost testate pe un lot de pacienți diagnosticați cu CCR și comparați cu un lot martor, pentru a se putea pune în evidență atât diagnosticul precoce dar și progresia tumorală în cazurile avansate. S-a observat o corelare a

valorilor acestor biomarkeri la pacienții cu tumori colorectale ceea ce poate sugera utilizarea lor ca și factor de prognostic în CCR.

3. Concluzii

- CCR reprezintă a treia cea mai diagnosticată formă de cancer la nivel mondial și cu toate acestea rata de deces este încă foarte mare, în special în țările nou industrializate;
- Rezultatele studiului confirmă prin numărul de pacienți și metodele standardizate utilitatea definirii unei populații de risc nu numai pe baza criteriile bine definite, dar și prin metode noi, de actualitate, neinvazive;
- Studiul efectuat evidențiază că incidența cea mai mare este la persoanele peste 55 de ani, vârful atins în lotul studiat fiind între 60 și 70 de ani, ceea ce poate sugera că factorii etiopatogenici pot avea un efect cumulativ;
- Forma de debut a mai avut un aspect important prin prezența determinărilor secundare prezente la momentul diagnosticului: 90 pacienți având determinări secundare ganglionare, metastaze hepatice (31 pacienți), pulmonare (23 pacienți), cerebrale (23 pacienți);
- FOBT poate reprezenta o opțiune importantă în diagnosticul precoce al diagnosticului tumorilor de colon, și implicit recomanda pacienții pentru colonoscopie;
- Efectuarea colonoscopiei până la nivelul cecului cu recoltarea de probe pentru examen histopatologic reprezintă standardul necesar diagnosticului CCR;
- Majoritatea pacienților a avut recoltat preoperator markeri tumorali și anume CEA, respectiv CA 19-9. S-a observat o corelare a acestora cu prezența extensiei bolii, astfel că valori crescute au fost întâlnite în ambele situații $p < 0.05$;
- În funcție de stadiul tumorii s-a remarcat că majoritatea cazurilor au fost diagnosticate într-un stadiu avansat – T3. Dintre aceștia în 93 de cazuri pacienții au fost bărbați, iar 62 de cazuri au fost reprezentate de femei. În T4 au fost diagnosticate 40 de persoane dintre care 22 au fost bărbați, respectiv 16 femei. S-au înregistrat doar 2 cazuri de tumora *in situ*, iar pentru stadiul T1 6 cazuri;
- În urma exciziei chirurgicale, în afară cazurilor în care s-a realizat doar tratament paliativ cu derivație digestive, s-a urmărit și dimensiunea tumorală, fiind considerat un factor de

prognostic în evoluția bolii. Cele mai multe cazuri au fost întâlnite în T3, cu dimensiunea tumorii sub 5 cm (88), dar și cu o medie între 5 și 10 cm în 55 de cazuri. De remarcat că majoritatea cazurilor au prezentat o dimensiune tumorală sub 5 cm, în schimb cele peste 10 cm au fost întâlnite în stadiile T3 și T4;

- Studiul nostru a încercat să pună în evidență expresia genică a CD34 drept un factor probabilistic în CCR. O relație directă între CD 34 și CD34 mRNA în țesuturile recoltate a fost luată în considerare și s-a încercat expunerea acestei relații prin compararea locației tumorale sau a evoluției bolii. Rezultatele obținute au subliniat importanța microdensității vasculare CD34 și a expresiei genice în cazul tumorilor localizate la nivelul rectului în comparație cu cele aflate la nivelul colonului;
- Studiul imunologic a pus în evidență utilizarea unor noi biomarkeri ce pot fi utilizați în diagnosticul precoce și evolutiv al CCR – VEGF, IL-6, IL-8, IL17
- Este important de subliniat faptul că momentan utilizarea unui singur marker pentru prognosticul CCR nu este suficient și este nevoie de crearea unui profil sau a unui panel de risc care să aducă în prim plan rezultatul mai multor factori fie ei histopatologici, inflamatori moleculari angiogenetici cu scopul de a obține o mai bună abordare clinică și terapeutică.

Bibliografie Selectivă

1. Jemal A, Center MM, Ward E, Thun MJ. Cancer occurrence. *Methods Mol Biol.* 2009;471:3–29.
2. Candela M, Turrone S, Biagi E, Carbonero F, Rampelli S, Fiorentini C, Brigidi P. Inflammation and colorectal cancer, when microbiota-host mutualism breaks. *World J Gastroenterol.* 2014;20:908–922.
3. Maguire A, Sheahan K. Controversies in the pathological assessment of colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2014 Aug 7;20(29):9850-61
4. Formica V, Cereda V, Nardecchia A, Tesauro M, Roselli M. Immune reaction and colorectal cancer: friends or foes? *World J Gastroenterol.* 2014 Sep 21;20(35):1240719
5. Coghlin C, Murray GI. Biomarkers of colorectal cancer: recent advances and future challenges. *roteomics Clin Appl.* 2015 Feb;9(1-2):64-71
6. Jun Zeng, Zhong-Hua Tang, Shuang Liu, and Shan-Shan Guo Clinicopathological significance of overexpression of interleukin-6 in colorectal cancer *orld J Gastroenterol.* 2017 Mar 14; 23(10): 1780–1786.
7. Bayhan Z, Simşek T, Ergül E, Utkan NZ, Canturk NZ, Cekmen M. Serum cytokine levels in patients with colorectal cancers according to tumor stages and VEGF gene polymorphism. *Hepatogastroenterology.* 2014 Oct;61(135):1889-94.
8. Zhou B, Shu B, Yang J, Liu J, Xi T, Xing Y. C-reactive protein, interleukin-6 and the risk of colorectal cancer: a meta-analysis. *Cancer Causes Control.* 2014 Oct;25(10):1397-405.
9. Sgourakis G, Papapanagiotou A, Kontovounisios C, Karamouzis MV, Dedemadi G, Goumas C, Karaliotas C, Papavassiliou AG. The combined use of serum neurotensin and IL-8 as screening markers for colorectal cancer. *Tumour Biol.* 2014 Jun;35(6):59936002.
10. Mathonnet M, Perraud A, Christou N, Akil H, Melin C, Battu S, Jauberteau MO, Denizot Y. Hallmarks in colorectal cancer: angiogenesis and cancer stem-like cells. *World J Gastroenterol.* 2014 Apr 21;20(15):4189-96
11. Lin Y, Xu J, Su H, Zhong W, Yuan Y, Yu Z, Fang Y, Zhou H, Li C, Huang K. Interleukin17 is a favorable prognostic marker for colorectal cancer. *Clin Transl Oncol.* 2015 Jan;17(1):50-6.