

CA 19-9 AND ITS SIGNIFICANCE IN DIAGNOSIS AND SCREENING OF COLORECTAL CANCER

Verica Spasova

Clinical Hospital - Stip, Republic of North Macedonia, verica.spasova@yahoo.com

Mire Spasov

Faculty of Medical Sciences, University "Goce Delcev" - Stip, Republic of North Macedonia,
mire.spasov@ugd.edu.mk

Hristijan Spasov

Graduate Engineer in Biochemistry, Republic of North Macedonia, spasov.hristijan@gmail.com

Abstract: The large intestine, as the final part of the digestive system, is a muscular-mucous organ, which is divided into: cecum, colon, and rectum. The digestion of food ends in it, assisted by intestinal juice containing alkaline mucin and beneficial microflora that participates in the synthesis of vitamins K, B12, B2, and B1. Feces are produced in the large intestine, which are then expelled from the body by the movement of the intestinal muscles. Colorectal cancer, as the most common cancer of the large intestine, develops from growths of the intestinal mucosa called polyps. Symptoms of colorectal cancer are most often bleeding, anemia, weight loss, changes in the rhythm of the stool. The most common causes of colorectal cancer are polyps, inflammatory bowel diseases, diabetes mellitus, excessive alcohol use, and reduced physical activity. The disease develops in several stages: from stage 0 when the intestinal mucosa is not affected to stage 4 when the cancer spreads into the muscular layer of the colon and metastasizes to other organs and the mucosa of the stomach wall. The tumor marker Ca 19-9 is the most commonly used marker when there is a suspicion that the patient suffers from colorectal cancer. It is not a tissue-specific marker and its concentration can also be increased in inflammatory processes of the colon, cirrhosis, hepatitis, Crohn's disease, ulcerative colitis, pancreatitis, gallstones. According to its chemical composition, it is a monoclonal antibody that also occurs in cancer of the colon, pancreas, stomach and bile ducts. Its synthesis requires the enzyme 1,4-fucosyl-transferase, which is not present in 5% of the world's population, in whom colorectal cancer may exist, but the concentration of Ca 19-9 should be within the reference limits of < 37 U/ml. Our goal was to prove the significance of determining the concentration of the tumor marker Ca 19-9 and therefore its concentration was measured in patients aged 50-75 years, divided into three groups: a control group of patients with a Ca 19-9 concentration within normal reference limits, a group diagnosed with colorectal cancer, and a group of patients undergoing anticancer therapy Bevacizumab. The method used to measure the level of Ca 19-9 concentration is an ELISA method that uses a solid-phase enzyme and is based on a sandwich system. The results obtained from the studies showed that patients diagnosed with Colorectal cancer have significantly higher results for the level of Ca 19-9 concentration compared to patients in the control group, while patients treated with therapy to reduce the level of Ca 19-9 in the blood, i.e. with Bevacizumab, have clearly reduced results for the level of Ca 19-9 to levels close to the control group, from which the effect of the treatment with Bevacizumab can be seen. The determination of Ca 19-9 is an auxiliary diagnosis in the diagnosis and treatment of colorectal cancer, and is not a primary diagnostic parameter of the disease. The diagnosis must be defined by histopathological analysis of the tumor, with increased values for Ca 19-9 together with a positive pathological finding confirming the diagnosis. When neoplastic polyp cells in the colon mucosa undergo mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes and they lose their tumor suppressor function, the cells divide uncontrollably and form their own network of blood vessels, resulting in colorectal cancer. The drug Bevacizumab is an inhibitor of vascular endothelial growth factor, which prevents the formation of new blood vessels, resulting in tumor death. The effect of the use of anticancer therapy to reduce the level of Ca 19-9 in the serum, i.e. the inhibition of VEGF, and its binding to Bevacizumab, is visible, which prevents angiogenesis and thus tumor metastasis.

Keywords: Ca 19-9, Bevacizumab, vascular endothelial growth factor, colorectal cancer.

СА 19-9 И НЕГОВОТО ЗНАЧЕЊЕ ВО ДИЈАГНОЗА И СКРИНИНГ НА КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ

Верица Спасова

Клиничка болница – Штип, Република Северна Македонија, verica.spasova@yahoo.com

Мире Спасов

Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, Република Северна
Македонија, mire.spasov@ugd.edu.mk

Христијан Спасов

Дипломиран инженер по биохемија, Република Северна Македонија, spasov.hristijan@gmail.com

Резиме: Дебелото црево како завршен дел од системот за варење претставува мускулно-лигавичен орган, на кој се разликуваат: слепо црево (*caecum*), колон (*colon*), и право црево (*rectum*). Во него завршува дигестијата на храната потпомогната од цревниот сок кој содржи алкален муцин и корисна микрофлора која учествува во синтеза на витамините К, В₁₂, В₂ и В₁. Во дебелото црево се создава фекал кој потаа со движење на цревната мускулатура се исфрла надвор од организмот. Колоректалниот карцином како најчест карцином на дебелото црево, се развива од израстоци на цревната слузокожа наречени полипи. Симптоми на колоректалниот карцином најчесто се крварење, анемија, губење на тежина, промени во ритмот на столицата. Најчеста причина за појава на колоректален карцином се полипите, воспалителни болести на цревата, *diabetes mellitus*, прекумерна употреба на алкохол, намалена физичка активност. Болеста се развива во неколку фази: од фаза 0 кога не е зафатена цревната слузница до фаза 4 кога канцерот се шири во мускулниот слој на дебелото црево и метастазира на други органи и слузницата на стомачниот сид. Тумор маркерот Са 19-9 е најчесто користен маркер при постоење на сомнеж дека пациентот боледува од колоректален карцином. Тој не е ткивно специфичен маркер и неговата концентрација може да биде зголемена и кај воспалителни процеси на дебелото црево, цироза, хепатит, Кронова болест, улцерозен колит, панкреатитис, жолчни камења. Според хемискиот состав е моноклонално антители кое се јавува и кај карцином на дебелото црево, панкреасот, желудникот и жолчните патишта. За негова синтеза потребен е ензим 1,4-fukozil-transferaza која не е присутна кај 5% од населението во светот, кај кои може да постои колоректален карцином, но концентрацијата на Са 19-9 да биде во референтните граници од < 37 U/ml. Наша цел беше да го докажеме значењето на одредување на концентрацијата на тумор маркерот Са 19-9 и затоа се мереше неговата концентрација кај пациенти на возраст од 50-75 години, поделени во три групи и тоа: контролна група на пациенти со концентрација на Са 19-9 во нормални референтни граници, група со поставена дијагноза за колоректален карцином, и група на пациенти положени на антиканцерогена терапија Bevacizumab. Методата со која се мери нивото на концентрацијата на Са 19-9 е ELISA метода која користи ензим во цврста фаза и базирана е на сендвич систем. Резултатите добиени од испитувањата покажаа дека пациентите со поставена дијагноза за Colorectal cancer се со сигнификантно повисоки резултати за нивото на концентрацијата на Са 19-9 споредено со пациентите од контролната група, додека пациентите третирани со терапија за намалување на нивото на Са 19-9 во крвта односно со Bevacizumab се со евидентно намалени резултати за нивото на Са 19-9 на нивоа блиски до контролната група од каде е влив ефектот од третманот со Bevacizumab. Одредувањето на Са 19-9 е помошна дијагноза во дијагностицирање и лекување на колоректален канцер, и не е примарен дијагностички параметар на болеста. Дијагнозата мора да биде дефинирана со хистопатолошка анализа на туморот, при што зголемени вредности за Са 19-9 заедно со позитивен патолошки наод ја потврдуваат дијагнозата. Кога клетките на неопластичниот полип во слузокожата на дебелото црево претрпуваат мутации во BRCA1 и BRCA2 гените и тие ја губат туморсупресивната функција, клетките неконтролирано се делат и формираат своја мрежа на крвни садови и се создава колоректален карцином. Медикаментот Bevacizumab претставува инхибитор на васкуларниот ендотелен фактор на раст, кој го спречува формирањето на нови крвни садови што резултира со смрт на туморот. Видлив е ефектот од употребата на антиканцерогената терапија за намалување на нивото на Са 19-9 во серумот, односно инхибицијата на VEGF, и неговото врзување за Bevacizumab со што е спречена ангиогенезата, а со тоа и метастазирањето на туморот.

Клучни зборови: Са 19-9, Bevacizumab, васкуларен ендотелен фактор на раст, колоректален карцином.

1. ВОВЕД

Дебело црево (*intestinum crassum*) претставува мускулно-лигавичен орган кој е завршен дел од системот за варење со должина од 1,5 метри. Започнува од десната бедрена јама формирајќи рамка околу витките на

тенкото црево и на него се разликуваат, слепо црево (*coecum*) со црвовиден израсток (*appendix vermiformis*), колон (*colon*), и право црево (*rectum*) со кое завршува дигестивниот систем. Во дебелото црево завршува дигестијата и ресорпцијата на храната која скоро целосно се одвива во тенкото црево. Главна компонента на цревниот сок од дебелото црево е алкалниот муцин, а одсуствуваат ензимите. Овде активна е цревната микрофлора која ги разградува несварените состојки од храната поради што се ослободуваат гасови (јаглерод диоксид, сулфур, водород, метан, азот и токсични материи, како амонијак, скатол итн.). Некои видови на бактерии учествуваат во биосинтеза на витамините K, B₁₂, B₂ и B₁. Долготрајна употреба на антибиотска терапија може да ја уништи оваа корисна микрофлора. Во дебелото црево од несварените состојки на храната, секретите и цревните микроорганизми се формира фецесот, кој се отстранува од организмот со контракција на мазните и напречно пругастите мускули во процесот на дефекација.

Колоректален карцином (Colorectal cancer) е најчест карцином на дебелото црево кој се развива од премалигни лезии наречени полипи. Тие се израстоци на цревната слузокожа кои ако не се третираат продолжуваат да се развиваат и завршуваат со канцер. Процесот е долготраен што значи има можност за превенција и отстранување на полипите пред да станат малигни. Во 90% од случаите канцерот се развива од полип, а 10 % е генетска предиспозиција. Полипите не покажуваат никакви симптоми, додека крварење, анемија, губење на тежина, промени во ритамот на столицата се симптоми на веќе развиен тумор. Постојат повеќе видови на колоректален карцином кои се создаваат поради неконтролиран раст на ткивото на дебелото црево или ректумот и може да се прошират на други делови на телото. Аденокарцином се јавува во 95% од случаите на колоректален карцином и ги зафаќа слузокожата и субмукозата на дебелото црево, гастроинтестинален стромален тумор со 0,1% застапеност кој може да започне во желудникот или тенкото црево, тумори на сквамозни клетки со 1% од колоректалните случаи, леиомиосарком кој се создава во сврзното ткиво на мазните мускули и може да го зафати анусот. Точните причини за колоректалниот карцином се непознати, но најчеста причина се полипите, потоа воспалителни болести на цревата како улцерозен колит (дисплазија на слузницата на дебелото црево) и Crohn-ова болест, генетска предиспозиција како фамилијарна adenomatous polipoza (FAP) ili Lynch-ов синдром, pretilost, diabetes mellitus, прекумерна употреба на алкохол, намалена физичка активност. Зголемен ризик од појава на канцер на дебелото црево имаат пушачите, алкохоличарите, пациенти со дијабетес тип 2, луѓе со прекумерна тежина, физички неактивни со претерана конзумација на преработено месо, постари луѓе од 50 години. Можат да настанат компликации како последица на болеста како: крварење во столицата, опструкција, перфорација на црево и жолтица. Постојат неколку фази на колоректален карцином: фаза 0 во која канцерот не го зафаќа внатрешниот слој на дебелото црево, фаза 1 ракот ја зафаќа субмукозата и слузокожата на дебелото црево но не е проширен во лимфниот систем, фаза 2 кога ракот е проширен во сидовите на дебелото црево или ректумот и во околните ткива, фаза 3 ракот ги зафаќа мускулните слоеви и лимфните јазли, фаза 4 ракот е проширен на околните органи и стомачната слузница. Дијагнозата на колоректалниот канцер се врши со физичка палпација на абдоменот и ректален преглед дали има крварење во столицата, комплетна крвна слика и специфични тумор маркери во серумот (Ca 19-9 и CEA), колоноскопија односно преглед на дебелото црево со видеокамера прицврстена на фиброоптичка цевка, биопсија или земање на дел од ткивото за време на колоноскопија за патолошки испитувања, компјутерска томографија, магнетна резонанца, протоскопија и др.

Туморските маркери по структура најчесто се протеини произведени директно од туморот или од самиот пациентот како имунолошки одговор како резултат на присуството на канцер. Иако сами по себе не се користат за дијагностицирање на карциномот, тие се исклучително корисни во следење на развојот на болеста, како телото реагира на медикаментозната терапија или друг третман, и дали доаѓа до рецидив на болеста. Ca 19-9 се моноклонални антитела кои се јавуваат во зголемена концентрација кај карцином на дебелото црево, панкреасот, желудникот и жолчните патишта. Зголемени концентрации се јавуваат и кај неканцерогени состојби како цирроза, хепатит, Кронова болест, улцерозен колит, панкреатитис, жолчни камења. Референтни вредности за Ca 19-9 се < 37 U/ml, вредности од 37-75 U/ml – се благо покачени вредности, > 75 U/ml – се зголемени вредности. Значењето на одредувањето на концентрацијата на туморскиот маркер Ca 19-9 е во следење на прогресијата на болеста каде, каде зголемени вредности значат раст и проширување на канцерот, или рецидив односно повторна појава на ракот, додека пад на концентрацијата на маркерот по хемотерапија или операција значи дека третманот е ефикасен. Не секој пациент со колоректален карцином има зголемени вредности на Ca 19-9 бидејќи за негова синтеза потребен е ензим 1,4-fukozil-transferaza која не е присутна кај 5% од луѓето во светот. Затоа кај овие пациенти и во поодмината фаза на болеста вредностите за Ca 19-9 остануваат во референтните граници.

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Со цел да се докаже значењето на одредување на концентрацијата на тумор маркерот Ca 19-9, за следење и одредување на соодветна ординирана терапија кај пациенти со поставена дијагноза за Colorectal cancer, ние изведувавме мерења на концентрацијата на туморскиот маркер Ca 19-9 кај пациенти на возраст од 50-75 години на имунолошкиот анализатор ARCHITET 1000 во склоп на биохемиската лабораторија при Ј.З.У. Клиничка болница-Штип. Испитувањата се вршеа на следните 3 групи пациенти и тоа:

- контролна група на пациенти со нормално ниво на Ca 19-9 во серумот (n=42)
- пациенти со дијагностициран Colorectal cancer (n=42)

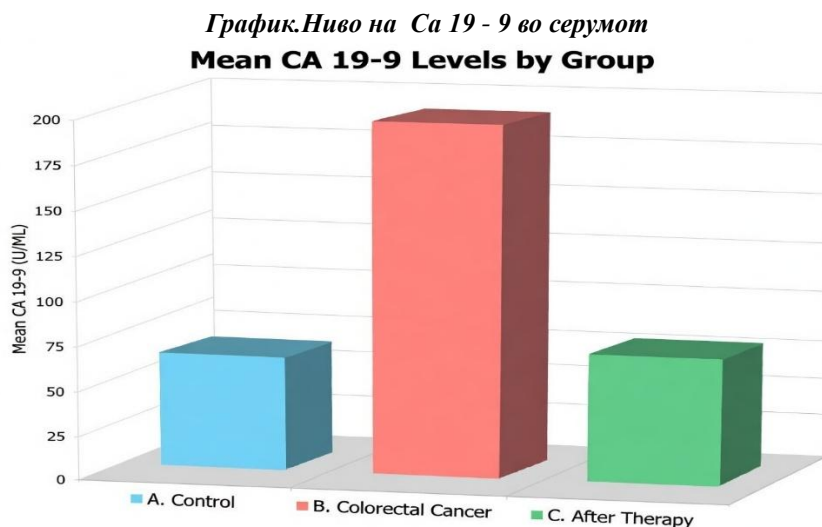
- пациенти третирани со антиканцерогена терапија за намалување на концентрацијата на Ca 19-9 во серумот (Bevacizumab), кој преставува инхибитор на васкуларниот ендотелен фактор на раст VEGF (n=42)

ELISA метода за одредување на концентрацијата на Ca 19-9

Принцип на методата: комплетот реагенси за ELISA тестот Ca 19-9 овозможува да се изведе имуноапсорбентна хемилуминисцентна анализа која користи цврста фаза обложена со ензим (ELISA метода). Методата се базира на сендвич систем. Со глувчешки антиген се обложени микротитарните бунарчиња, насочен кон уникатното место на молекулата на Ca 19-9 која по состав е моноклонално антители. Ca 19-9 од серумот на пациентот се инкубира во обложениот бунар со ензимскиот конјугат кој по состав е анти Ca 19-9 антители конјугирано со пероксидаза. Неврзаниот конјугат по завршување на инкубацијата неколкукратно се испира. Концентрацијата на сврзаната пероксидаза е право пропорционална со концентрацијата на Ca 19-9 во серумот на пациентот. Во бунарчињата се додава раствор за развивање на боја чиј интензитет на обојување пропорционален со концентрацијата на Ca 19-9 во серумот од пациентот. Нормални референтните вредности на тумор маркерот Ca 19-9 во серумот на пациенти се < 37 U/L. Методата за изведување на анализата користи 20 μ L серум и готов тест за Ca 19-9, во времетраење од 20 минути и се користи за мерење на моноклоналното антители Ca 19-9 при Colorectal cancer.

3. РЕЗУЛТАТИ

При мерењето на концентрацијата на Ca 19-9 кај пациентите од контролната група, групата пациенти со Colorectal cancer и групата пациенти третирани со Bevacizumab добиени се следните резултати прикажани на графикот.



Извор: истражување на авторите

Легенда:

- група А, нормално ниво на концентрација на Ca 19-9 во серумот (контролна група)
- група В, дијагностициран Colorectal cancer
- група С, третирани со антиканцерогена терапија (Bevericizumab) кој е инхибитор на васкуларниот ендотелен фактор на раст VEGF.

Добиените резултати покажуваат дека пациентите со дијагностициран Colorectal cancer имаат сигнификантно зголемени резултати за концентрацијата на Ca 19-9 во однос на пациентите од контролната

група. Пациентите на кои им е ординирна терапија за намалување на нивото на Ca 19-9 во серумот односно Bevacizumab имаат видливо намалени резултати за концентрацијата на Ca 19-9 на нивоа близу до референтните граници. Видливиот ефект од третманот со терапија со Bevacizumab во намалувањето на концентрацијата на Ca 19-9 во серумот го покажуваат резултатите од графикот, односно успехот од лекувањето на Colorectal cancer, како болест која го нарушува квалитетот на животот на пациентите.

4. ДИСКУСИЈА

Туморсупресивните гени за протеини BRCA1 и BRCA2 (BRCA1 и BRCA2) учествуваат во репарација на ДНК во организмот и затоа секоја нивна и најмала промена или мутација предизвикува канцерогени промени. Клетките кои немаат функционални BRCA1 и BRCA2 гени можат неконтролирано да се делат при што настанува канцер. Colorectal cancer настанува кога клетките на неопластичниот полип во слузокожата на дебелото црево претрпуваат мутации во BRCA1 и BRCA2 гените и тие ја губат туморсупресивната функција, клетките неконтролирано се делат и формираат своја мрежа на крвни садови. Медикаментот Bevacizumab претставува инхибитор на васкуларниот ендотелен фактор на раст (Vascular endothelial growth factor, VEGF), кој спречува формирање на нови крвни садови кој ќе го хранат туморот, што резултира со смрт на туморските клетки. Мерењето на туморскиот маркер Ca 19-9 е помошна дијагноза во дијагностицирање и лекување на колоректален канцер, и не претставува примарен дијагностички параметар на болеста. Дијагнозата мора да се дефинира со хистопатолошка анализа на туморските клетки, при што зголемени вредности за Ca 19-9 при позитивен патолошки наод ја потврдуваат дијагнозата. Намалените вредности за концентрацијата на Ca 19-9 кај пациентите третирани со медикаментот Bevacizumab покажуваат позитивен одговор на организмот на терапијата, при што истиот врши инхибиција на васкуларниот ендотелен фактор на раст кој се лачи од новоформираните крвни садови на канцерот. Намалената мрежа на крвни садови оневозможува раст и метастазирање на канцерот.

5. ЗАКЛУЧОЦИ

Од истражувањата кои беа направени за да се види ефектот од третманот со антиканцерогена терапија Bevacizumab во услови на колоректален канцер ги изведовме следните заклучоци:

- констатиравме намален квалитет на животот кај пациенти со дијагностициран Colorectal cancer,
- негативниот ефект предизвикан од влијанието на присуството на карцином на колонот, се отстранува со примена антиканцерогена терапија Bevacizumab,
- пациентите со дијагностициран Colorectal cancer, имаат концентрацијата на Ca 19-9 која сигнификантно се зголемува во однос на референтните вредности,
- пациенти третирани со антиканцерогена терапија, имаат нивото на Ca 19-9 кое сигнификантно се намалува до вредности блиску до референтните вредности,
- откако ќе се потврди дијагнозата се пристапува кон употреба на соодветна антиканцерогена терапија за намалување на концентрацијата на Ca 19-9 во серумот, односно се врши инхибиција на ендотелијалниот фактор на раст (VEGF), при што со негово врзување за Bevacizumab се спречува ангиогенезата а со тоа и растот и развојот на туморот.

ЛИТЕРАТУРА

- Aliseda, D., Arredondo, J., Sánchez-Justicia, C., Alvarellos, A., Rodríguez, J., Matos, I., Rotellar, F., Baixauli, J., Pastor, C. (2024). Survival and safety after neoadjuvant chemotherapy or upfront surgery for locally advanced colon cancer: meta-analysis. *Br J Surg*, 111(2):znae021. doi: 10.1093/bjs/znae021.
- Boublikova, L., Novakova, A., Simsa, J., Lohynska, R. (2023). Total neoadjuvant therapy in rectal cancer: the evidence and expectations. *Crit Rev Oncol Hematol*, 192:104196. doi: 10.1016/j.critrevonc.(2023).104196.
- Backes, Y., Elias, S.G., Groen, J.N., Wolfhagen, W.H.J., Cercek, A., Lumish, M., Sinopoli, J., Weiss, J., Shia, J., Lamendola-Essel, M., El Dika, H.I., Segal, N., Shcherba, M., Sugarman, R., Stadler, Z., Yaeger, R., Smith, J., Rousseau, B., Argiles, G. (2022). PD-1 Blockade in mismatch repair-deficient, locally advanced rectal cancer. *N Engl J Med*, 386(25), 2363–76. doi: 10.1056/NEJMoa2201445.
- Demir, N., Ozel, C., Avci, H., Dincer, M. (2021). Determination of therapeutic agents efficiencies of microsatellite instability high colon cancer cells in post-metastatic liver biochip modeling. *FASEB J*, 35(9), e21834. doi: 10.1096/fj.202100333R. Chu, Q.D., Zhou, M.,
- Ebata, Y., Nakanishi, R., Tanaka, Y., Tajiri, H., Zaitzu, Y., Nakashima, Y., Ota, M., Oki, E., Yoshizumi, T. (2024). Neoadjuvant Chemotherapy in Patients With T4b or Obstructive Colon Cancer: A Single Center Retrospective Cohort Study. *Anticancer Res*, 44(3), 1281-1287. doi: 10.21873/anticancer.16923.

- Gupta, K., Elfiky, A., Patel, E. (2023). Clinical Evidence for the Benefits of Neoadjuvant Chemotherapy and Immunotherapy in Colon Cancer: A Concise Review. *Discov Med*, 35(179), 928-935. doi: 10.24976/Discov.Med.202335179.88.
- Ludford, K., Ho, W.J., Thomas, J.V, Blum Murphy, M.B., Fleming, N.D., Lee, M.S., Smaglo, B.G., You, Y.N., Tillman, M.M., Kamiya-Matsuoka, C., Thirumurthi, S., Messick, C. (2023). Neoadjuvant pembrolizumab in localized microsatellite instability high/deficient mismatch repair solid tumors. *J Clin Oncol*, 41(12), 2181–2190. doi: 10.1200/JCO.22.01351.
- Liu, S., Jiang, T., Xiao, L., Yang, S., Liu, Q., Gao, Y., Chen, G., Xiao, W. (2021). Total Neoadjuvant Therapy (TNT) versus Standard Neoadjuvant Chemoradiotherapy for Locally Advanced Rectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Oncologist*, 26(9), e1555-e1566. doi: 10.1002/onco.13824.
- Mestdagh, F., Steyaert, A., Lavand'homme, P. (2023). Cancer Pain Management: A Narrative Review of Current Concepts, Strategies, and Techniques. *Curr Oncol*, 30(7), 6838-6858. doi: 10.3390/curroncol30070500.
- Morton, D., Seymour, M., Magill, L., Glasbey, J., Glimelius, B., Palmer, A., Seligmann, J., Laurberg, S., Murakami, K., West, N., Quirke, P., Gray, R. (2023). Preoperative Chemotherapy for Operable Colon Cancer: Mature Results of an International Randomized Controlled Trial. *J Clin Oncol*, 41(8), 1541-1552. doi: 10.1200/JCO.22.00046.
- Nair, K.G., Kamath, S.D., Chowattukunnel, N., Krishnamurthi, S.S. (2024). Preoperative Strategies for Locally Advanced Colon Cancer. *Curr Treat Options Oncol*, 25(3), 376- 388. doi: 10.1007/s11864-024-01184-6.
- Patton, L., Avsar, P., Nugent, D.L., O'Connor, T., Patton, D., Moore, Z. (2021). What is the impact of specialist palliative care outpatient consultations on pain in adult patients with cancer? A systematic review. *Eur J Oncol Nurs*, 55:102034. doi: 10.1016/j.ejon.2021.102034.
- Popescu, I., Dudău, A.M., Dima, S., Herlea, V., Croitoru, V.M., Dinu, I.M., Miron, M., Lupescu, I., Croitoru-Cazacu, I.M., Dumitru, R., Croitoru, A.E. (2024). Multimodal Treatment of Metastatic Rectal Cancer in a Young Patient: Case Report and Literature Review. *Medicina (Kaunas)*, 60(5), 696. doi: 10.3390/medicina60050696.
- Rathin, G., Clemente, C., Michel, M., Warriar, S.K., Kong, J.C. (2021). Neoadjuvant chemotherapy in locally advanced colon cancer: a systematic review and metaanalysis. *Int J Colorectal Dis*, 36(10), 2063-2070. doi: 10.1007/s00384-021-03945-3.
- Sugimoto, S., Arita, A., Shima, T., Takayama, S., Yamamoto, M., Okuda, J. (2023). A Case of Descending Colon Cancer with Distant Metastasis That Was Controlled Severe Side Effects of Chemotherapy and Achieved Long-Term CR. *Gan To Kagaku Ryoho*, 50(13), 1906-1908. PMID: 38303248
- Turri, G., Ostuzzi, G., Vita, G., Scarpa, A., Milella, M., Mazzarotto, R., Ruzzenente, A., Barbui, C., Pedrazzani, C. (2024). Treatment of Locally Advanced Rectal Cancer in the Era of Total Neoadjuvant Therapy: A Systematic Review and Network Meta- 50 Analysis.C. *JAMA Netw Open*, 7(6), e2414702. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2024.14702.
- Tamburini, E., Tassinari, D., Ramundo, M., Viola M.G., Romano, C., Elia, M.T., Zanaletti, N., Rudnas, B., Casadei-Gardini, A., Delrio, P., Toma, I., Granata, V., Petrucelli, L., Avallone, A. (2022). Adjuvant chemotherapy after neoadjuvant chemo-radiotherapy and surgery in locally advanced rectal cancer. A systematic review of literature with a meta-analysis of randomized clinical trials. *Crit Rev Oncol Hematol*, 172, 103627. doi: 10.1016/j.critrevonc.2022.103627.
- Vendrelly, V., Rivin Del Campo, E., Modesto, A., Jolnerowski, M., Meillan, N., Chiavassa, S., Serre, A., Gérard, J.P., Créhanges, G., Huguet, F., Lemanski, C., Peiffert, D. (2022). *Cancer Radiother*, 26(12), 272-278. doi: 10.1016/j.canrad.2022