

# KORELACIJA BROJA TUMORSKIH PUPOLJAKA I STADIJUMA TUMORA KOD KARCINOMA DEBELOG CREVA

## AUTORI

Đerković Branislav, Mijović Milica, Vukićević Danica, Vukmirović Mihajlo, Vitković Leonida, Nedeljković Vladica  
 Insititut za patologiju, Medicinski fakultet Priština, Kosovska Mitrovica

## KORESPONDENT

BRANISLAV ĐERKOVIĆ  
 Medicinski fakultet Priština,  
 Univerzitet u Prištini  
 ✉ branodj@gmail.com

## SAŽETAK

Standardizovano određivanje stadijuma tumora ("staging") uzima u obzir dubinu invazije crevnog zida i prisustvo lokalnih ili udaljenih metastaza, sa ciljem da što preciznije proceni dužinu preživljavanja pacijenata. Ovaj sistem procene ne preslikava u potpunosti biološko ponašanje karcinoma pojedinačno, tj. njegovu agresivnost i sposobnost ponovnog pojavljivanja nakon terapije. Štaviše karcinomi kod nekih pacijenata imaju agresivniji rast nego drugi karcinomi u istom kliničkom stadijumu, jer postoje i drugi prognostički parametri koji određuju biološko ponašanje karcinoma debelog creva, a koji nisu uključeni u standardne klasifikacije određivanja stadijuma tumora. Jedan od skorašnjih parametara koji su dospeli u žižu interesovanja je i tumorsko pupljenje („tumor budding“) koje predstavlja jednu pojedinačnu ćeliju ili grupu do pet nediferenciranih tumorskih ćelija, koje se nalaze u stromi ispred fronta invazivne linije karcinoma. Obradeno je 92 karcinoma debelog creva i gornjeg rektuma koji su odstranjeni u Opštoj bolnici u Trebinju i Zdravstvenom centru u Kosovskoj Mitrovici. Cilj rada je da se utvrdi postoji li povezanost između broja tumorskih pupljaka i stadijuma tumora kod kolorektalnih karcinoma. Stadijum tumora je određen po Astler-Coller klasifikaciji. Na osnovu  $\chi^2$  testa dolazi se do zaključka da u našem radu ne postoji statistička značajnost u distribuciji tumorskog pupljenja u odnosu na stadijum tumora po Astler Coller klasifikaciji ( $p=0,383$ ;  $p>0.05$ ).

**Ključne reči:** tumorsko pupljenje, stadijum tumora, karcinom debelog creva

## UVOD

Najveći broj primarnih malignih neoplazmi digestivnog sistema (oko 70%) se pojavljuje u debelom cervu. [1]

Najzastupljeniji maligni tumor debelog creva je adenokarcinom, koji čini oko 90% svih maligniteta ovog dela digestivnog trakta. Za njegov razvoj od primarno zdrave sluznice, preko adenoma do karcinoma, potreban je dug vremenski period koji obično traje više od 10 godina. [2]

Incidenca pojavljivanja karcinoma debelog creva je u najveća u ekonomski razvijenim zemljama, najviše zbog upotrebe prerađene hrane životinjskog porekla i bez dovoljno vlakana, dok je niska u zemljama koje su u razvoju. [1]

U zadnje dve decenije ima tendenciju postepenog pada zbog bolje prevencije, rane dijagnostike i kvalitetnije terapije ovih karcinoma.

Jedan od prvih parametara koji je praćen, a i potvrđen kao značajan u određivanju prognoze kolorektalnih karcinoma je stadijum tumora. Iako je Astler-Coller iz koje je izvedena TNM klasifikacija stadijuma tumora prilično pouzdan prognostički parametar, uočeno je da i dalje postoje pacijenti koji u istom stadijumu bolesti nemaju istu dužinu postoperativnog preživljavanja nakon terapijske resekcije. Postavlja se pitanje: zašto? [3,4]

Osim stadijuma, postoje i drugi faktori koji su prognostički bitni a koji se mogu utvrditi na osnovu uobičajenog histopatološkog nalaza. Oni takođe ukazuju na povećanu šansu za agresivno ponašanje kolorektalnih karcinoma, što dovodi do bržeg širenja tumora i skraćenja preživljavanja. Takvi parametri su invazija limfnih sudova, invazija krvnih sudova i perineuralna invazija. [1]

Skorašnja istraživanja u patologiji karcinoma debelog creva uvode novi važan marker - tumorsko pupljenje („tumor budding“) koji takođe ukazuje na agresivnije ponašanje tumora u budućnosti. [5,6]

Tumorsko pupljenje („tumor budding“) predstavlja pojedinačnu izolovanu ćeliju ili grupu do pet nediferenciranih tumorskih ćelija, koje se nalaze u stromi ispred fronta invazivne linije karcinoma. Tumorsko pupljenje upućuje na dediferencijaciju ćelija karcinoma, koje su izgubile kontaktne veze i odvojile se od tumorske mase, pa lakše metastaziraju. [5]

Uočeno je da od dva karcinoma u istom stadijumu, agresivnije ponašanje ima onaj koji ima „budding“ promene, što bi moglo da se iskoristi za donošenje adekvatne terapijske strategije. [6]

Tumorsko pupljenje je znači jedan važan parametar agresivnosti koji se može proceniti još u ranoj fazi razvoja karcinoma, kada ukazuje na moguću sledujuću invaziju limfatika i metastaziranje. To je marker koji se može posmatrati prilikom rutinskog patohistološkog pregleda običnih hematoksilin-eozinom obojenih pločica, bez primene skupih i zahtevnih metoda, uz mogućnost naknadne kasnije provere isečaka iz parafinskih kalupa.

Rađene su studije o sposobnosti migracije i invaziranje zdravog tkiva od strane karcinoma ćelija na prednjačućoj liniji fronta lezije „in vitro“, objašnjavaju da tumorsko pupljenje predstavlja oblik migracije i invazivnosti tumorskih ćelija. [7].

Istraživanja koje su sproveli Morodomi i sar. [8] 1989. Godine, ukazuju da tumorsko pupljenje skoro uvek prethodi invaziji limfnih sudova, pretpostavljajući da predstavlja uvod u invaziju limfatika. Na taj način bi tumorsko pupljenje moglo predstavljati jednu fazu karcinomske infiltracije, koju je moguće detektovati u ranoj fazi razvoja karcinoma na pločici obojenoj rutinskim hematoksilin-eozin bojenjem. U istom radu Morodomi i sar., od 112 uzoraka uzetih preoperativnom biopsijom, tumorsko pupljenje je nađeno u 52 (46%) od kojih je posle operacije 42 slučaja (79%) bilo sa evidentnim metastazama u limfnim nodusima. Na osnovu toga, oni među prvima podvlače da tumorsko pupljenje predstavlja faktor rizika za pojavu limfonodalnih metastaza. [8]

Pošto su metastaze u limfnim nodusima i udaljenim organima neki od ključnih parametara za određivanje stadijuma karcinoma, logično je bilo očekivati da će biti nađena povezanost između broja tumorskih pupoljaka i stadijuma tumora.

Standardizovano određivanje stadijuma tumora („staging“) uzima u obzir dubinu invazije crevnog zida i prisustvo lokalnih ili udaljenih metastaza, sa ciljem da što preciznije proceni dužinu preživljavanja pacijenata. Ovaj sistem procjene ne reflektuje u potpunosti biološko ponašanje karcinoma pojedinačno, tj. njegovu agresivnost i sposobnost ponovnog pojavljivanja nakon terapije. To možemo zapaziti iz kliničkog iskustva, da tumor kod nekih pacijenata ima agresivniji rast nego drugi karcinomi u istom kliničkom stadijumu. Iz toga se može zaključiti da tumorsko pupljenje može pomoći boljem razumevanju prognoze i preciznijem određivanju preživljavanja pacijenata, kao dopuna stadijumu tumora. [3,4]

## CILJ RADA

Cilj rada je da se utvrdi postoji li povezanost između broja tumorskih pupoljaka i stadijuma tumora kod kolorektalnih karcinoma, po Astler Coller klasifikaciji.

## MATERIJAL I METODE

Ovim istraživanjem analiziran je materijal 92 pacijenta sa karcinomom debelog creva, od čega je bilo 53 (57,6%) žena i 39 (42,4%) muškaraca.

Karcinomi su odstranjeni hirurškom resekcijom na odeljenju hirurgije Opšte bolnice u Trebinju i u Zdravstvenom centru u Kosovskoj Mitrovici i Kliničko-bolničkom centru u Gračanici u periodu od 1999. do 2006. god.

Izabrana su 92 pacijenta sa karcinomom debelog creva, čiji je propratni materijal mogao da se interpretira po odabranim posmatranim parametrima. Na osnovu navedenog se može zaključiti da se radi o studiji preseka.

U analizu su uključeni i karcinomi gornjeg rektuma, koji se nalaze na kolo-rektalnoj granici, a karcinomi koji su bili udaljeni manje od 6 cm od anusa isključeni su iz istraživanja, zbog njihove posebne patohistologije, problematike rasta, širenja i metastaziranja. Znači, analizirani su samo primarni karcinomi debelog creva i

gornjeg dela rektuma. Hirurški dobijen materijal obrađen je uobičajenom metodom pato-histološke procedure. Materijal dobijen endoskopskom biopsijom nije uključen u istraživanje.

Isečci tkiva su stavljeni u parafinske kalupe i bojeni standardnom metodom hematoksilin-eozin bojenja.

Za svaki karcinom notirani su:

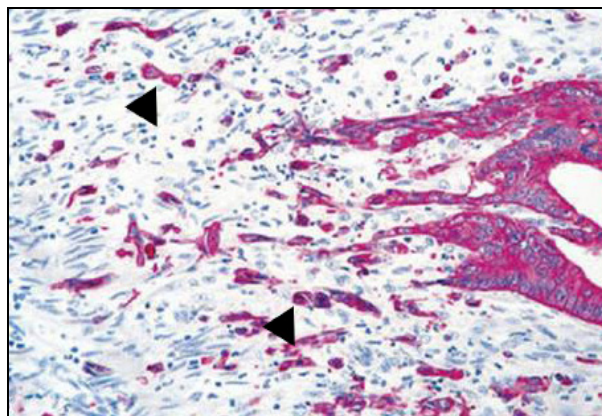
1. Tumorsko pupljenje:

<10 (nizak broj tumorskih pupoljaka - „low grade“),

≥10 (visok broj tumorskih pupoljaka - „high grade“).

2. Stadijum tumora po standardnoj Astler-Coller klasifikaciji.

Prisustvo tumorskih pupoljaka određeno je u skladu sa kriterijumom koji je postavio Morodomi sa saradnicima, gde su tumorski pupoljci definisani kao izolovana pojedinačna karcinomska ćelija ili grupica do 5 nediferenciranih karcinoma ćelija koje se pojavljuju u vidu pupoljaka iz tumorskog tkiva na invazivnoj ivici tumora. [5,8]



Slika 1. Tumorski pupoljci „tumor budding“ ispred invazivne linije karcinoma (Institut za patologiju, Medicinski fakultet Priština, Kosovska Mitrovica)

Dalja „budding“ kvantifikacija obavljena je pregledom svake pločice na manjem uvećanju 10 (x100), pri čemu se identifikuju regije sa najvećom gustinom tumorskih pupoljaka. [5] U svakom tumoru treba pronaći tri takve regije sa velikom gustinom promena, koje se potom analiziraju pod većim uvećanjem 20 (x200), pri čemu se ona sa najvećim brojem tumorskih pupoljaka uzima za reprezentativan uzorak. [5,9]

Stadijum tumora je određen po Astler Coller klasifikaciji, iz koje je izvedena TNM, klasifikacija. Pošto je operativni materijal već bio analiziran na osnovu ove klasifikacije, mi smo je prihvatili u našem radu.

Prema Astler Coller klasifikaciji:

A - tumor je probio lamina muscularis mucosae i ulazi u submukozu;

B1 - tumor ulazi u lamina muskularis propria ali je ne probija;

B2 - tumor probija lamina muskularis propria i ulazi u subserozu;

C1 - pozitivni limfni čvorovi bez probijanja lamina muskularis propria;

C2 - pozitivni limfni čvorovi sa probijanjem lamina muskularis propria;  
D - udaljene metastaze.

Svi podaci su pažljivo klasifikovani u odgovarajuće kategorije, pazeći da ne dođe do neodgovarajućeg svrstavanja ili interpretacije, kao i do preklapanja između kategorija. Statistička obrada podataka je urađena u StatView® 5 software (SAS \ Institute, Cary, NC) programu, pri čemu je korišćen  $\chi^2$  test, a  $p < 0.05$  smatrano je za statistički značajnu vrednost.

## REZULTATI I DISKUSIJA

Stadijum tumora se određuje na osnovu dubine invazije tumora u zid debelog creva, prisustva metastaza u regionalnim limfnim nodusima i u udaljenim organima.

Poznato je da karcinomi češće metastaziraju limfogenim putem, a sarkomi češće hematogenim putem.

U brojnim radovima koji ispituju tumorsko pupljenje se navodi da je invazija limfnih puteva nađena u 38% [10], 47,8% [5], 67,9% [11], slučajeva.

Dva najčešće pominjana parametra koja su povezana sa tumorskim pupljenjem su invazija limfnih sudova i limfonodalne metastaze. U mnogim radovima je potvrđeno da visok nivo („High grade“) tumorskog pupljenja pokazuje statističku značajnost u odnosu na invaziju limfnih sudova, kojoj verovatno i prethodi [5,15,12,13,14], što implicira na lošiji ishod kod pacijenata sa više izraženim tumorskim pupljenjem.

Morodomi i sar. [8] 1989. godine u svojim istraživanjima mehanizma nastanka kolorektalnih karcinoma uočavaju da tumorsko pupljenje konstantno prethodi invaziji limfatika, spekulisujući da je pupljenje uvod u invaziju limfatika. Na taj način tumorsko pupljenje bi moglo predstavljati jednu fazu karcinomske infiltracije, koju je moguće detektovati u ranoj fazi razvoja karcinoma na pločici obojenoj rutinskim H-E bojenjem. [15]

Zbog toga, u novije vreme istraživači na ovom polju ulažu napore ne bi li na neki način uvrstili tumorsko pupljenje u aktuelni sistem klasifikacije karcinoma debelog creva.

U brojnim studijama „high grade“ tumorsko pupljenje se navodi kao jedan od najbitnijih faktora za nastanak limfonodalnih metastaza [8,16,12,5,15,17,9,10,18], a Kazama i sar. tvrde da je bitniji prediktor od invazije limfatika. [19] U svome radu Kaneko i sar. navode invaziju limfatika kao najjači prediktor za nastanak nodalnih metastaza, kod ranih karcinoma debelog creva. [20]

Pošto je pojavi karcinomske ćelije u limfaticima u većini slučajeva prethodilo tumorsko pupljenje, onda možemo pretpostaviti da je i pojava metastaza u limfnim čvorovima i u udaljenim organima povezana sa tumorskim pupljenjem. [13]

Tako da je opravdana ideja da izraženo tumorsko pupljenje može biti povezano sa lakšim metastaziranjem i prisustvom viših stadijuma tumora u momentu uspostavljanja dijagnoze.

Prisustvo ili odsustvo limfonodalnih metastaza, kao i njihov broj u perikoličnom masnom tkivu ili u lokalnim limfnim čvorovima, koristi se za određivanje tumorskog stadijuma i procenu prognoze preživljavanja. Pri analizi limfnih nodusa treba notirati mesto, broj nađenih / broj

zahvaćenih limfnih nodusa, veličinu i ekstrakapsularno širenje. [21] Prosečan broj nađenih limfnih čvorova oko jednog karcinoma varira zavisno od anatomskih karakteristika pacijenta, mesta i obima resekcije i preoperativne adjuvantne terapije. [1]

Nakon ispitivanja našeg uzorka, pacijenata sa karcinomom debelog creva, i određivanja broja tumorskih pupoljaka na osnovu standarda koji je postavio Morodomi i sar. [5,8] uočeno je da je „High grade (HG)“ pupljenje nađeno u visokom procentu. [5,11]

Iz dobijenih rezultata se uočava da je „High grade (HG)“ tumorsko pupljenje je nađeno u 66 (71,7%), dok je „Low grade (LG)“ pupljenje bilo zastupljeno u 26 (20,3%) slučajeva.

Određivanje stadijuma, odnosno faze razvoja tumora, odnosi se na klinički stepen tumorskog rasta i stepen njegovog širenja. Precizno određivanje stadijuma je jako bitno za razumijevanje biološkog ponašanja tumora, i to za svaki tumor specifično.

Takođe, stadijum je bitan i za određivanje adekvatne terapije, koja se može dosta razlikovati od stadijuma do stadijuma, pri čemu se obezbeđuje zadovoljavajući stepen tačnosti predviđanja kliničkog toka nekog malignog procesa, nakon terapije.

Treba napomenuti da kliničko određivanje stadijuma nije precizna mera stepena širenja maligniteta, jer mala metastatska žarišta u limfnim čvorovima ili organima nije moguće uvek otkriti. Određivanje stadijuma malignih tumora se zasniva na procjeni veličine primarne lezije (dubine invazije), zahvaćenosti regionalnih limfnih nodusa i prisustvu ili odsustvu metastaza.

Rezultati koje smo dobili u našem radu su sortirani po Astler-Coller klasifikaciji u sledeću tabelu. Iz navedenog se može uočiti da su tumori koji su odstranjeni bili većinom u odmaklim stadijumima, što ukazuje na neblagovremenu dijagnostiku. Jednim delom za to mogu biti odgovorne neadekvatne ili zastarele procedure dijagnostike, a možda i većim delom, neažurnost i kulturološka svest pacijenata. Shodno tome, vidimo da nemamo ni jedan karcinom u A grupi, koja je optimalna za blagovremen i optimalan tretman, a ujedno ima i najbolju prognozu. [1,2]

Tabela 1.  $\chi^2$  - test: tumorsko pupljenje / stadijum karcinoma debelog crijeva po Astler-Coller-u

Stadijum	TUMORSKO PUPLENJE			p
	1. 0-9	2. $\geq 10$		
2. B1	Broj	3	6	0,383
	% od ukupnog	3,30%	6,50%	
3. B2	Broj	13	23	
	% od ukupnog	14,10%	25,00%	
4. C1	Broj	0	2	
	% od ukupnog	0,00%	2,20%	
5. C2	Broj	5	25	
	% od ukupnog	5,40%	27,20%	
6. D	Broj	5	10	
	% od ukupnog	5,40%	10,90%	
Ukupno	Broj	26	66	
	% od ukupnog	28,30%	71,70%	

Kao što se iz naziva ovog rada da zaključiti glavni cilj istraživanja bio je da se odredi statistička povezanost između intenziteta tumorskog pupljenja i stadijuma karcinoma debelog crijeva. Očigledno je logično bilo naći veći broj tumorskih pupoljaka u uznapredovalim stadijumima karcinoma debelog creva.

Pojedini autori navode takve rezultate. U svome istraživanju Park i sar. dolaze do zaključka da postoji statistički značajna povezanost između povećanja broja tumorskih pupoljaka i rastućeg stadijuma po TNM ili Dukes-u. [13]

Hase i sar. u svome radu dokazuju da incidenca "High grade" tumorskog pupljenja raste sa povećanjem stadijuma po Dukes-u. [15,12]

Takođe, Choi i sar. na osnovu istraživanja u svom radu tvrde da tumorsko pupljenje uz određivanje tumorskog stadijuma može bolje predvidjeti petogodišnje preživljavanje nego samo određivanje tumorskog stadijuma. [14,4]

Na osnovu  $\chi^2$  testa uočava se da ne postoji statistički bitna značajnost u distribuciji tumorskog pupljenja u odnosu na stadijum karcinoma debelog crijeva po Astler Coller-u ( $p>0,05$ ).

## ZAKLJUČAK

Nije nađena značajna statistička korelacija između distribucije tumorskog pupljenja i stadijuma karcinoma debelog creva po Astler-Coller klasifikaciji ( $p=0,383$ ;  $p>0,05$ ).

## LITERATURA

1. Fletcher C. Diagnostic Histopathology of Tumors, 2nd Edition, Churchill Livingstone 2004; 389-390.
2. Kumar V, Cotran R, Robbins S. Robbins Basic Pathology 7th Edition, Saunders 2003; 582.
3. Okuyama T, Oya M, Ishikawa H. Budding as a useful prognostic marker in pT3 well - or moderately differentiated rectal adenocarcinoma. J Surg Oncol 2003;83:42-7.
4. Park K, Choi H et al. Intensity of Tumor Budding and Its Prognostic Implications in Invasive Colon Carcinoma. Dis Colon Rectum 2005; 48: 1597-1602.
5. Ueno H, Murphy J, Jass JR et al. Tumour 'budding' as an index to estimate the potential of aggressiveness in rectal cancer. Histopathology 2002;40:127-32.
6. Broders AC. Squamous-cell epithelioma of the lip. A study of five hundred and thirty-seven cases. J Am Med Assoc 1920; 74:656-64.
7. Nabeshima K, Inoue T, Snimano Y et al. Cohort migration of carcinoma cells: Differentiated colorectal carcinoma cells move as coherent cell clusters or sheets. Histol Histopathol 1999; 14:1183-97.
8. Morodomi T, Isomoto H, Shirouzu K et al. An index for estimating the probability of lymph node metastasis in rectal cancers. Lymph node metastasis and the histopathology of actively invasive regions of cancer. Cancer 1989; 63:539-43.
9. Shinto E, Jass JR et al. Differential Prognostic Significance of Morphologic Invasive Markers in Colorectal Cancer: Tumor Budding and Cytoplasmic Podia. Dis Colon Rectum 2006; 49:1422-1430.
10. Okuyama T, Oya M et al. Budding (Sprouting) as a Useful Prognostic Marker in Colorectal Mucinous Carcinoma. Jpn J Clin Oncol 2002; 32(10):412-416.
11. Okuyama T, Nakamura T, Yamaguchi M. Budding is useful to select high-risk patients in Stage II well-differentiated or moderately differentiated colon adenocarcinoma. Dis Colon Rectum 2003;46:1400-6.
12. Okuyama T, Oya M, Ishikawa H. Budding as a useful prognostic marker in pT3 well - or moderately - differentiated rectal adenocarcinoma. J Surg Oncol. 2003;83(1):42-7.
13. Park K, Choi H et al. Intensity of Tumor Budding and Its Prognostic Implications in Invasive Colon Carcinoma. Dis Colon Rectum 2005; 48: 1597-1602.
14. Choi H, Park K et al. Tumor budding as a prognostic marker in stage-III rectal carcinoma. Int J Colorectal Dis 2007;22(8):863-8.
15. Hase K, Shatney C, Johnson D, et al. Prognostic value of tumor "budding" in patients with colorectal cancer. Dis Colon Rectum 1993;36:627-35.
16. Hase K, Shatney C, Mochizuki H et al. Long-term results of curative resection of "minimally invasive" colorectal cancer. Dis Colon Rectum 1995;38:19-26.
17. Masaki T, Matsuoka H, Sugiyama M et al. Budding as a useful determinant of the optimal treatment for T1 rectal carcinomas. Hepatogastroenterology 2003;50:388-91.
18. Masaki T, Matsuoka H. Actual number of tumor budding as a new tool for the individualization of treatment of T1 colorectal carcinomas. J Gastroenterol Hepatol. 2006 Jul; 21 (7): 1115-21.
19. Kazama S, Watanabe T et al. Tumour budding at the deepest invasive margin correlates with lymph node metastasis in submucosal colorectal cancer detected by anticytokeratin antibody CAM5.2. British Journal of Cancer 2006;94:293 - 298.
20. Kaneko I, Tanaka S et al. Lymphatic Vessel Density at the Site of Deepest Penetration as a Predictor of Lymph Node Metastasis in Submucosal Colorectal Cancer. Dis Colon Rectum 2006;50:13-21.

21. Araki Y, Isomoto H, Shirouzu K et al. Clinicopathological characteristics of colorectal submucosal carcinoma with lymph node metastasis. *Kuru me Med J* 1993;40; 123-7.
22. Hayashida K, Isomoto H, Shirouzu K et al. A studies of invasive colorectal carcinoma with reference mainly to vessel invasion and budding. *J Jpn Soc Coloproctol* 1987;40:119.

## ENGLISH

## CORRELATION OF NUMBER OF TUMOR BUDS AND TUMOR STAGE IN LARGE BOWEL CARCINOMAS

Đerković Branislav, Mijović Milica, Vukićević Danica, Vukmirović Mihajlo, Vitković Leonida, Nedeljković Vladica  
Institute of Pathology, Medical faculty, Pristina, Kosovska Mitrovica

## SUMMARY

Standardized staging of tumors takes into account the depth of invasion of the intestinal wall and the presence of local or distant metastases, specifically focusing to precisely estimate length of patient survival. This assessment system does not fully reflect the biological behaviour of cancer individually, ie. tumor aggressiveness and ability of recurrence tumor after medical treatment. Furthermore, cancer at some patients have more aggressive growth than other carcinomas in the same clinical stage, because there are other parameters that determine the biological behaviors of colon cancer, which are not included in the standard classification of determining tumor stage. One of the recent arguments which are due in the spotlight is "tumor budding", which represents one cell or group of up to five non-differentiated tumor cells, which are found in the stroma out of the invasive front line of cancer. There are 92 colon cancer and upper rectum processed, which are collected at General Hospital in Trebinje and Medical Center in Kosovska Mitrovica. The aim is to determine whether there is a correlation between the number of tumor budding and stage of tumors in colorectal cancer. The tumor stage is determined by Astler Coller classification. Investigation, based on  $\chi^2$ -test, leads to the conclusion that there is not a statistical significance in tumor budding distribution in relation to tumor stage according to the Astler Coller classification ( $p = 0.383$ ;  $p > 0.05$ ).

**Key words:** tumor budding, TNM stage, colon cancer

---