

ПОВЕЗАНОСТ ТУМОРСКОГ ПУПЉЕЊА, ИНВАЗИЈЕ ЛИМФАТИКА И МЕТАСТАЗА У ЛИМФНИМ ЧВОРОВИМА КОД КОЛОРЕКТАЛНИХ КАРЦИНОМА

Ђерковић Б., Ванчетовић-Мијовић М., Вукићевић Д., Митић Н.

Институт за патологију, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

CONNECTION OF TUMOR BUDDING, LYMPHATIC VESSEL INVASION AND LYMPH NODE METASTASIS IN COLORECTAL CARCINOMAS

Ђерковић Б., Ванчетовић-Мијовић М., Вукићевић Д., Митић Н.

Institute of Pathology, Medical faculty Priština, Kosovska Mitrovica

SUMMARY

Tumor budding refers to an isolated cell or a cluster of up to five undifferentiated tumor cells, located in the stroma close to the invasion frontline of a carcinoma. It has been observed that tumor budding invariably precedes both an invasion into the lymphatic vessels surrounding a tumor and the development of metastases in lymphatic nodes. The aim of this paper is to determine the link between tumour budding, lymphatic vessel invasion and presence of lymph node metastasis in colorectal carcinomas. The study involved 92 cases of colon and upper rectum cancers removed at the Trebinje General Hospital and the Medical Centre in Kosovska Mitrovica. High-grade tumour budding was diagnosed in 66 (71.7%) cases, and low-grade tumour budding in 26 (20.3%) cases. Lymphatic invasion was detected in 63 (68.5%) cases (55 (87.3%) of these cancers showed high-grade tumour budding, while on the other hand 8 (12.7%) had low-grade tumour budding). Lymphonodal metastases were found in 45 (48.9%) cases (of which 36 (80.0%) were high-grade and 9 (20.0%) low-grade incidents). Based on the χ^2 -test, it may be concluded that the distribution of tumour budding in relation to lymphatic invasion ($p < 0.001$) is statistically very significant, which was not confirmed in the case of metastases developing in lymphatic nodes ($p > 0.05$). In conclusion, tumour budding is highly linked to lymphatic invasion, which it most probably precedes.

Key words: colorectal carcinomas; tumour budding; lymphatic invasion

САЖЕТАК

Туморско пупљење ("tumor budding") представља изоловану ћелију или групу до пет недиференцираних туморских ћелија, које се налазе у строми испред фронта инвазивне линије карцинома. Уочено је да туморско пупљење, константно претходи инвазији лимфних судова у околини тумора као и настанку метастаза у лимфним нодулама. Циљ рада је да се утврди повезаност туморског пупљења и инвазије лимфатика код колоректалних карцинома. Обрађено је 92 карцинома дебелог црева и горњег ректума који су одстрањени у Општој болници у Требињу и Медицинском центру у Косовској Митровици. "High grade (HG)" туморско пупљење је нађено у 66 (71,7%), док је "Low grade (LG)" било присутно у 26 (20,3%) случајева. Инвазија лимфатика је евидентирана у 63 (68,5%) случаја (у оквиру чега је 55 (87,3%) карцинома било са "HG" пупљењем, док је са друге стране 8 (12,7%) било са "LG" пупљењем). Лимфонодалне метастазе су нотирани код 45 (48,9%) случајева (у оквиру чега је "HG" било 36 (80,0%) а "LG" 9 (20,0%). На основу χ^2 -теста долази се до закључка да постоји изражена статистичка значајност у дистрибуцији туморског пупљења у односу на инвазију лимфних судова ($p < 0,001$), док кад су у питању метастазе у лимфним нодулама она није нађена ($p > 0,05$). Значи, туморско пупљење је изразито повезано са инвазијом лимфатика, коме највероватније и претходи.

Кључне речи: колоректални карциноми; туморско пупљење; инвазија лимфатика

УВОД

Карциноми дебелог црева и горњег ректума (у англосаксонској литератури често називани - колоректални карциноми), су најчешће (око 70%) малигне неоплазме дигестивног тракта. (1)

Инциденца ових карцинома је релативно велика у економски развијеним земљама (САД, северозападна Европа и сл.), са тенденцијом постепеног пада због боље превенције, ране дијагностике и квалитетније терапије ових карцинома. Са друге стране њихова ин-

циденца је ниска у слабо развијеним земљама Азије, Африке и јужне Америке.

Најчешћи малигни тумор дебелог црева је аденокарцином (око 90%). За његову појаву потребан је дуг временски период, при чему долази до комплексне интеракције између генетских поремећаја и фактора средине. (2)

Познато је да дубина туморске пенетрације, захваћеност лимфних чворова и присуство удаљених ме-

тастаза имају најјачи утицај на дужину постоперативног преживљавања код пацијената са хируршки одстрањеним карциномом дебелог црева. Због тога су наведени параметри уврштени у скоро све познате класификације за процену стадијума карцинома дебелог црева.

Механизам одвајања туморских ћелија од примарног тумора и путеви њиховог метастазирања у лимфне нодусе и удаљене органе су одувек у медицини били предмет великог интересовања.

Упркос добро избалансираним класификацијама и даље постоје пацијенти који у истом стадијуму болести немају исту дужину постоперативног преживљавања након терапијске ресекције. Зашто?

Патолози већ дуже време трагају за додатним параметрима који указују на агресивност колоректалних карцинома и доводе од бржег развоја метастаза.

Туморско пупљење („tumor budding“) представља изоловану ћелију или групу до пет недиференцираних туморских ћелија, које се налазе у строми испред фронта инвазивне линије карцинома. Њихов налаз указује на дедиференцијацију тумора и представља један од важнијих знакова туморске инвазије. Ћелије које су се одвојиле од туморске масе изгубиле су контактне везе па лакше метастазирају. (3)

Уочено је да од два карцинома у истом стадијуму, агресивније понашање има онај који има „budding“ промене.

Концепт процене броја туморских пупољака није нов. Мада је 1920. године од стране Бродерса први пут поменуто могућа повезаност између карактеристика инвазивне линије карцинома и малигних карактеристика тумора, све до 1980-их година није било даљих истраживања. (4)

Туморско пупљење може представљати фазу карциномске инфилтрације у којој ћелије мигрирају из карцинома у здраво ткиво захваљујући још недовољно познатом механизму.

Набешима и сар. након студије о покретљивости и инвазивности на предњачејој линији фронта лезије „in vitro“, објашњавају туморско пупљење као облик миграције и инвазивности туморских ћелија. (6)

Хајашида 1987. године, испитујући туморско пупљење долази до закључка да је туморско пупљење корисна алатка за процену лимфатичне ангиоинвазије коју је некада тешко проценити. (5)

Са друге стране, Мородоми и сар. (7) 1989. године у серији истраживања механизма настанка карцинома дебелог црева уочавају да туморско пупљење константно прегходи инвазији лимфатика, спекулишући да је пупљење увод у инвазију лимфних судова. На тај начин би туморско пупљење могло представљати једну фазу карциномске инфилтрације, коју је могуће детектовати у раној фази развоја карцинома на плочици обојеној рутинским хематоксилин-еозин бојењем. У истом раду Мородомија и сар., од 112 узорака узетих преоперативном биопсијом, туморско пупљење је нађено у 52 (46%) биопсије, од којих је после операције 42 случаја (79%) било са евидентним метастазама у лимфним нодусима. На основу тога, они међу првима подвлаче да ту-

морско пупљење представља фактор ризика за појаву лимфонодалних метастаза.

Студије засноване на туморском пупљењу код Т1 карцинома колона углавном су тврдиле да постоји велика повезаност између инвазије лимфатика и метастаза у лимфним чворовима. Хајашида (5) је међу првима указао да је туморско пупљење везано за инвазију лимфатика код Т1 карцинома дебелог црева. На основу тога, туморско пупљење може да буде од велике користи за додатну процену инвазије лимфатика. Араки и сар. (9) су нашли да је туморско пупљење ретроградно нађено у 41% случајева са метастазама у лимфним чворовима.

Туморско пупљење је значи један важан параметар агресивности који се може проценити још у раној фази развоја карцинома, када указује на могућу следећу инвазију лимфатика и метастазирање. То је маркер који се може посматрати приликом рутинског патохистолошког прегледа са обичних хематоксилин-еозин бојених плочица, без примене скуких и захтевних метода, уз могућност накнадне касније провере исчека из парфинских калупа.

ЦИЉ РАДА

Циљ рада је да се у испитиваном узорку утврди повезаност између присуства туморског пупљења, инвазије лимфатика и метастаза у регионалним лимфним чворовима код колоректалних карцинома.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Овим истраживањем обухваћено је 92 карцинома дебелог црева који су одстрањени хируршком ресекцијом на одељењу хирургије Опште болнице у Требињу, Медицинском центру у Косовској Митровици и Клиничко-болничком центру у Грачаници у периоду од 1999. до 2006. год.

Изабрана су 92 пацијента са карциномима дебелог црева, чији је пропратни материјал могао да се интерпретира по сваком основу. На основу наведеног се може закључити да се ради о студији пресека.

У анализу су укључени и карциноми горњег ректума, који се налазе на коло-ректалној граници, а карциноми који су били удаљени мање од 10 цм од ануса искључени су из истраживања. Карциноми средњег и доњег ректума и аналног предела се због њихове посебне хистологије, проблематике раста, ширења и метастазирања обично одвојено испитују од карцинома колона. Значи, анализирани су само примарни карциноми дебелог црева. Хируршки добијен материјал обрађен је уобичајеном методом патохистолошке процедуре. Исечци ткива су стављани у парафинске калупе и бојени стандардном методом хематоксилин-еозин бојења.

За сваки карцином нотирани су:

1. Туморско пупљење:
1. <10 (низак број туморских пупољака - "low grade"),
2. 10 (висок број туморских пупољака - "high grade").

2. Инвазија лимфатика:

1. Не

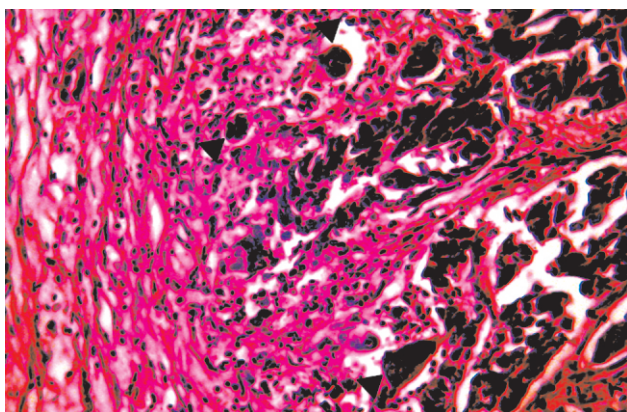
2. Да

3. Метастазе у лимфним чворовима:

1. Не

2. Да

Присуство туморских пупољака одређено је у складу са критеријумом који је поставио Мородоми са сарадницима, где су туморски пупољци дефинисани као изолована појединачна карциномска ћелија или група до 5 недиференцираних карциномских ћелија које се појављују у виду пупољака из туморског ткива на инвазивној ивици тумора. (3, 7)



Слика 1. Туморски пупољци (1-5 недиферентованих карциномских ћелија) на инвазивној линији карцинома (Институт за патологију, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица).

Даља "budding" квантификација обављена је прегледом сваке плочице на мањем увећању 10 (x100), при чему се идентификују регије са највећом густином туморских пупољака. (3) У сваком тумору треба пронаћи три такве регије са великом густином промена, које се потом анализирају под већим увећањем 20 (x200), при чему се она са највећим бројем туморских пупољака узима за репрезентативан узорак. (3, 8) Сви подаци су пажљиво класификовани у одговарајуће категорије, пажећи да не дође до неодговарајућег сврставања или интерпретације, као и до преклапања између категорија. Статистичка обрада података је урађена у StatView® 5 software (SAS\Institute, Cary, NC) програму, при чему је коришћен χ^2 -тест, и униваријантна регресиона анализа, а $p < 0.05$ сматрано је за статистички значајну вредност.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

У овом истраживању „High grade (HG)” туморско пупљење је евидентирано у 66 (71,7%), док је „Low grade (LG)” пупљење било присутно у 26 (20,3%) случајева.

Повезаност туморског пупљења и инвазије лимфних судова

Утврђено је мишљење да се карциноми до регионалних лимфних чворова шире пре свега лимфним путевима.

Инвазија лимфатика се у радовима који испитују ову тематику налази у 38% (14), 47,8% (3), 67,9% [15], случајева. У овом раду је инвазија лимфатика нађена у 63 (68,5%) случаја, на основу чега се може закључити да је овај параметар агресивности био заступљен у високом проценту.

Инвазија лимфних судова је уз лимфонодалне метастазе најчешће испитиван параметар у вези са туморским пупљењем. У многим радовима је потврђено да висок ниво („High grade”) туморског пупљења показује статистичку значајност у односу на инвазију лимфних судова, а такође ови аутори наводе да пупљење вероватно претходи и указује на скоро појављивање инвазије лимфатика (3, 10, 11, 12, 13), а тиме и лошију прогнозу, јер је инвазија лимфатика претеча локалних а касније и удаљених метастаза.

Са друге стране, Мородоми и сар. (7) 1989. године у серији истраживања механизма настанка карцинома дебелог пријева уочавају да туморско пупљење константно претходи инвазији лимфатика, спекулишући да је пупљење увод у инвазију лимфатика. На тај начин туморско пупљење би могло представљати једну фазу карциномске инфилтрације, коју је могуће детектовати у раној фази развоја карцинома на плочици обојеној рутинским Х-Е бојењем.

Из резултата χ^2 (Табела 1.) - теста види се да у овом истраживању постоји изражена статистичка значајност у дистрибуцији туморског пупљења у односу на инвазију лимфних судова ($p < 0,001$).

Табела 1. χ^2 -тест: туморско пупљење/инвазија лимфатика.

		Туморско пупљење		
		0-9	10	p
И Н В А З И Ј А Л И М Ф А Т И К А	- Број	18	11	
	НЕ - % у туморско пупљење	69,2%	16,7%	
	- % од укупног	19,6%	12,0%	
	- Број	8	55	
	ДА - % у туморско пупљење	30,8%	83,3%	0.001
	- % од укупног	8,7%	59,8%	
Укупно	- Број	26	66	
	- % у туморско пупљење	100,0%	100,0%	
	- % од укупног	28,3%	71,7%	

Повезаност туморског пупљења и метастаза у лимфним чворовима

У претходном тексту неколико аутора тврди да је појави карциномских ћелија у лимфатичима у већини случајева претходило туморско пупљење, онда је логично претроставити да ће туморско пупљење такође утицати и на појаву лимфонодалних метастаза.

Присуство или одсуство лимфонодалних метастаза, као и њихов број у периколичном масном ткиву или у локалним лимфним чворовима, користи се за одређивање туморског стадијума и процену прогнозе преживљавања. При анализи лимфних нодуса треба нотирати место, број нађених / број захваћених лимфних но-

дуса, величину и екстракапсуларно ширење. Просечан број нађених лимфних чворова око једног карцинома варира зависно од анатомских карактеристика пацијента, места и обима ресекције и преоперативне адјувантне терапије.

Много радова истичу лимфонодалне метастазе као један од најважнијих прогностичких предиктора код карцинома дебелог црева.

У нашем раду, метастазе у лимфним чворовима су у моменту дијагностике биле присутне у 45 (48,9%) карцинома дебелог цријева [16% (11); 41,8% (15); 48,5% (8); 54,8% (14)].

У бројним студијама "high grade" туморско пупљење се наводи као један од најбитнијих фактора за настанак лимфонодалних метастаза (7, 18, 11, 3, 10, 19, 8, 14, 20), а Казама и сар. тврде да је битнији предиктор од инвазије лимфатика (16). У своме раду Канеко и сар. наводе инвазију лимфатика као најјачи предиктор за настанак нодалних метастаза, код раних карцинома дебелог црева (17).

Иако су метастазе у лимфним чворовима у моменту успостављања дијагнозе биле заступљене у високом проценту (48,9%) код пацијената са колоректалним карциномом, на основу резултата урађеног χ^2 - теста (Табела 2.) налазимо да не постоји статистичка значајност између дистрибуције туморских пупљака и присуства метастаза у лимфним чворовима ($p > 0,05$).

Табела 2. χ^2 -тест: туморско пупљење/метастазе у лимфним чворовима.

		Туморско пупљење		
		0-9	10	p
МЕТАСТАЗЕ У ЛИМФНИМ ЧВОРОВИМА	- Број	17	30	0.001
	НЕ - % у туморско пупљење	65,4%	45,5%	
	- % од укупног	18,5%	32,6%	
	- Број	9	36	
	ДА - % у туморско пупљење	34,6%	54,5%	
	- % од укупног	9,8%	39,1%	
Укупно	- Број	26	66	
	- % у туморско пупљење	100,0%	100,0%	
	- % од укупног	28,3%	71,7%	

Хазе и сар. су потврдили да је од 44% пацијената са туморским пупљењем 25% имало метастазе у лимфним чворовима, док код оних без туморског пупљења није било метастаза (18).

У неколико радова о туморском пупљењу уочено је да је оно било позитивно код 21% до 56% карцинома. Код пацијената са позитивним туморским пупљењем инциденца захваћености лимфних чворова је варијала од 24% до 41%, на супрот 0 до 7% код оних без туморског пупљења (18, 11).

У раду Мородомија (7) и сар. (1989), од 112 узорака узетих преоперативном биопсијом, туморско пупљење је нађено у 52 (46%) биопсије, од којих је у 42 случаја (79%) било метастаза у лимфним чворовима. На ос-

нову тога, они међу првима подвлаче да туморски "budding" представља фактор ризика за појаву лимфонодалних метастаза.

Поједини аутори наводе да туморски "budding" има јачи утицај на настанак лимфонодалних метастаза него инвазија лимфатика (16), а заједно имају већу специфичност и показују јачу предикторну вредност (11, 16).

ЗАКЉУЧАК

1. Потврђена је статистички значајна повезаност између интензитета туморског пупљења ("high grade") и инвазије лимфних судова ($p < 0,001$);

2. Није нађена очекивана статистичка значајност између дистрибуције "high grade" туморског пупљења и присуства метастаза у лимфним чворовима ($p > 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

- Fletcher C. Diagnostic Histopathology of Tumors, 2nd Edition, Churchill Livingstone 2004; 389-390.
- Kumar V, Cotran R, Robbins S. Robbins Basic Pathology 7th Edition, Saunders 2003; 582.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Okuyama T, Nakamura T, Yamaguchi M. Budding is useful to select high-risk patients in Stage II well-differentiated or mo-

- derately differentiated colon adenocarcinoma. *Dis Colon Rectum* 2003;46:1400-6.
16. 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.
 17. 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.
 18. 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.
 19. 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.
 20. 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.