

УДК: 616-006.04-076-097.3-079.4

Пославська О.В., Шпонька І.С., Гриценко П.О.

ОСОБЛИВОСТІ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО ФЕНОТИПУ КАРЦИНОМ НЕВІДОМОЇ ПЕРВИННОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Серед раків невідомої первинної локалізації аденокарциноми традиційно залишаються найбільш частим гістологічним типом пухлин. Підтип аденокарциноми з колоректальним фенотипом (СК20+, СК7-, CDX2+) має порівняно кращий прогноз, завдяки більш ефективній системі процедур, що розроблена протягом останніх двох десятиліть для раку товстої кишки. Точна верифікація метастазів колоректальних раків може викликати труднощі через подібність метастазів первинних гастро-інтестинальних, панкреато-біліарних або муцинозних аденокарцином жіночої репродуктивної системи, що симулюють характеристики первинних раків товстої кишки і навпаки. Мета – дослідити комплекс морфологічних та імуногістохімічних характеристик метастазів колоректальних аденокарцином порівняно із первинними пухлинами товстої кишки для вдосконалення діагностичних алгоритмів. Матеріали і методи. В роботі проведено ретроспективний аналіз біопсійного матеріалу 37 пацієнтів (29 жінок та 8 чоловіків) з метастазами без первинної локалізації, що після імуногістохімічного дослідження виявилися колоректальними раками віком від 28 до 81 років (середнє 58,46±12,28; медіана 58) й 41 спостереження післяопераційного матеріалу пацієнтів з первинною пухлиною товстої кишки (24 жінки та 17 чоловіків, віком від 27 до 76 років (середнє 60,56±12,81; медіана 64). Результати дослідження. Аналіз розподілу локалізації метастатичних карцином виявив перевагу ураження жіночої репродуктивної системи: 18 із 37 (48,65%) (13 з яких (35,13%) припадало на яєчники, морфологічно ці спостереження набували рис папілярної серозної помірнодиференційованої карциноми. Вік жінок контрольної групи (середнє 60,54±12,25; медіана 65) був трохи більшим, ніж жінок з метастатичним ураженням репродуктивної системи (середнє 59,26±13,40; медіана 60), і тим більше жінок з метастазами колоректальних аденокарцином інших локалізацій (середнє 57,2±12,16; медіана 58,2) (всі $p>0,05$). Висновки. Аденокарциноми колоректального фенотипу СК20+/CDX2+/СК7- з падінням ступеня диференціювання можуть набувати СК7+ статусу в окремих пухлинних патернах, що з огляду на високі відсотки серед пацієнтів жінок та перевагу метастатичного ураження яєчників потребує розширення імуногістохімічної панелі маркерами виключення (наприклад СА-125, рецепторів естрогенів).

Ключові слова: раки без первинної локалізації, колоректальний рак, СК20, CDX2, СК7.

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії і судової медицини ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Розробка діагностичних та прогностичних критеріїв новоутворень різних локалізацій з урахуванням біологічних показників активності пухлинного процесу» (номер державної реєстрації 0116U002827, термін виконання 2016-2018).

Вступ

Гетерогенна група злоякісних пухлин епітеліального гістогенезу, що після ретельного дослідження залишаються без відомого джерела походження, для статистичного обліку об'єднують в загальну групу раків невідомої первинної локалізації (carcinomas of unknown primary origin (CUPs)). Серед них метастази аденокарцином (АК) традиційно залишаються найбільш частим гістологічним типом пухлин, джерело яких часто стає диференціально-діагностичною проблемою [1]. За таких обставин, пацієнти з раками невідомої первинної локалізації (РНПЛ) мають поганий клінічний прогноз з обмеженою тривалістю життя. Середній термін виживання пацієнтів з РНПЛ складає 8 місяців при метастазах, що вражають лише регіональні лімфатичні вузли і 3 місяці при екстранодальній дисемінації АК [2]. До того ж РНПЛ при ранньому розповсюдженні демонструє непередбачувану картину метастатичного поширення [1,2]. Прогноз для пацієнтів з РНПЛ визначають на підставі клінічних і патологічних критеріїв. Методом вибору для верифікації небезпідставно стає імуногістохімічне дослідження. Більшість фенотипів РНПЛ (80%-85%)

належать до неблагоприємних, через те, що їх чутливість до терапії невелика. Підтип АК з колоректальним фенотипом (cytokeratin-20+ [СК20+], cytokeratin-7- [СК7-], CDX2+), за даними літератури, має порівняно кращий прогноз завдяки більш ефективній системі процедур, що розроблена протягом останніх двох десятиріч для раку товстої кишки (the National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology) [3]. Але в окремих випадках точна верифікація метастазів колоректальних карцином викликає деякі труднощі, через подібні метастази первинних гастро-інтестинальних, панкреато-біліарних або муцинозних АК жіночої репродуктивної системи, що симулюють макроскопічні, мікроскопічні та/або імуногістохімічні характеристики первинних АК товстої кишки і навпаки [4-6]. Junjeong Choi із співавт. (2017) провівши ІГХ дослідження 106 випадків РНПЛ з маркерами СК20, СК7, CDX2 відмічають їх варіативність в карциномах різного ступеня диференціювання, що ускладнює інтерпретацію позитивних та негативних статусів цих маркерів для верифікації первинного джерела [2].

Мета

Дослідити комплекс морфологічних, імуногістохімічних та морфометричних характеристик колоректального фенотипу карцином невідомої первинної локалізації, порівняно із первинними пухлинами товстої кишки, для вдосконалення діагностичних алгоритмів.

Матеріали і методи

В роботі проведено ретроспективний аналіз клінічних даних, гістологічних та імуногістологічних характеристик біопсійного матеріалу 37 пацієнтів (29 жінок та 8 чоловіків) з метастазами без первинної локалізації, що після ІГХ дослідження виявилися АК колоректального фенотипу CK20+/CDX2+/CK7- віком від 28 до 81 років (середнє 58,46±12,28; медіана 58) й 41 спостереження післяопераційного матеріалу пацієнтів з первинною пухлиною товстої кишки (24 жінки та 17 чоловіків віком від 27 до 76 років (середнє 60,56±12,81; медіана 64).

Для морфометричного методу використовувалась камера мікроскопу Zeiss Primo Star - AxioCam ERC 5s з ліцензованим програмним забезпеченням ZEN 2 blue edition, інформативні поля зору були зафіксовані в форматі .jpg і оброблені в програмі ImageJ з визначенням периметру, площі та круглості ядер, згідно методики описаної в інших публікаціях [7-8]. Імуногістохімічне дослідження проводилось згідно протоколів компанії ThermoScientific (TS), (США). У зрізах завтовшки 4 мкм використовували систему візуалізації Lab Vision Quanto (TS, США) з виявленням білкового ланцюга за допомогою DAB Quanto Chromogen (TS, США). Характеристики моноклональних антитіл занесені в таблицю 1.

Статистичний аналіз параметрів площин, периметрів та коефіцієнту круглості клітин проводили в програмах ImageJ та Microsoft Excel з розрахунком мінімального, максимального, медіани, середнього арифметичного та стандартного відхилення [7,8].

Таблиця 1
Первинні моноклональні антитіла

Первинні антитіла	Клон (розведення)	Локалізація реакції
Cytokeratin, Pan	AE1/AE3(1:50)	Цитоплазма
Vimentin	Ab-2/sp20 (1:200)	Цитоплазма
CD45	Ab-3 (1:200)	Мембрана
S100	Ab-1 (1:1000)	Цитоплазма
CDX2	EPR27649 (1:100)	Ядро
CA125	Ab-1 (1:10)	Мембрана
Cytokeratin 7 (CK7)	RCK105 (1:100)	Цитоплазма
Cytokeratin 20 (CK20)	Ks 20.8 (1:100)	Цитоплазма

Результати дослідження та їх обговорення

Всі відібрані спостереження метастатичних аденокарцином були проаналізовані за патернами гістологічної будови і відповідали «епітеліоїдній» морфології та колоректальному фенотипу Cytokeratin, Pan AE1/AE3+ / Vimentin- / CD45 - / S100- / CK20+ / CK7- (здебільшого) / CDX2+ (хоча б частково) після діагностичної ІГХ панелі антитіл (рис. 1 А-Г).

Аналіз розподілу локалізацій метастатичних АК виявив перевагу ураження жіночої репродуктивної системи: 18 із 37 (48,65%) (13 з яких (35,13%) припадає на яєчники, а 5 на інші локалізації – шийка, тіло матки, піхва), 7 печінки, 4 легень, 3 канцероматозу очеревини, далі по 1 локалізації (мозок, шкіра, простата, сечовід, надключичний лімфатичний вузол) (рис. 2). Серед них 5 вже з множинною дисемінацією. Не дивлячись на різноманітність місць знаходження, морфологічно група РНПЛ колоректального фенотипу частіше за все набувала рис папілярної серозної помірнодиференційованої АК (рис. 1 А).

Розподіл локалізацій первинних пухлин товстої кишки продемонстрував перевагу ураження сигмовидної кишки 13 із 41 (31,71%), далі 8 сліпої, 7 висхідного відділу ободової кишки, 6 попереково-ободової кишки (в тому числі печінкового

кута) 5 прямої, 1 апендиксу, 1 анусу. 2 спостереження вже мали віддалені метастази, але в своїй більшості 21 із 41 (51,22%) первинні пухлини товстої кишки були представлені помірнодиференційованими АК, подібно до групи колоректальних метастатичних АК (23 з 37 – 62,16%).

Подібність гістологічної будови первинних та метастатичних АК колоректального фенотипу знайшли своє відображення в показниках їх морфометричного дослідження програмою ImageJ, всі $p > 0,05$ (табл. 2)

Імуногістохімічний профіль первинних пухлин товстої кишки визначив найбільш специфічними маркерами панцитокератин AE1/3, цитокератин CK20 і CDX2, що в усіх спостереженнях були позитивними, але деяку варіативність в експресії інших: CK7 (4 із 41 (9,75%) мали позитивний статус, що відповідало 1 недиференційованому раку, 2 низькодиференційованим АК та 1 АК помірного ступеня диференціації). Треба відзначити, що в групі з метастатичними АК частково-позитивними на CK7 виявились 2 метастази в печінку та тіло матки, що поряд з CK20+ і CDX2+ дало підставу вважати ці випадки колоректальними фенотипами.

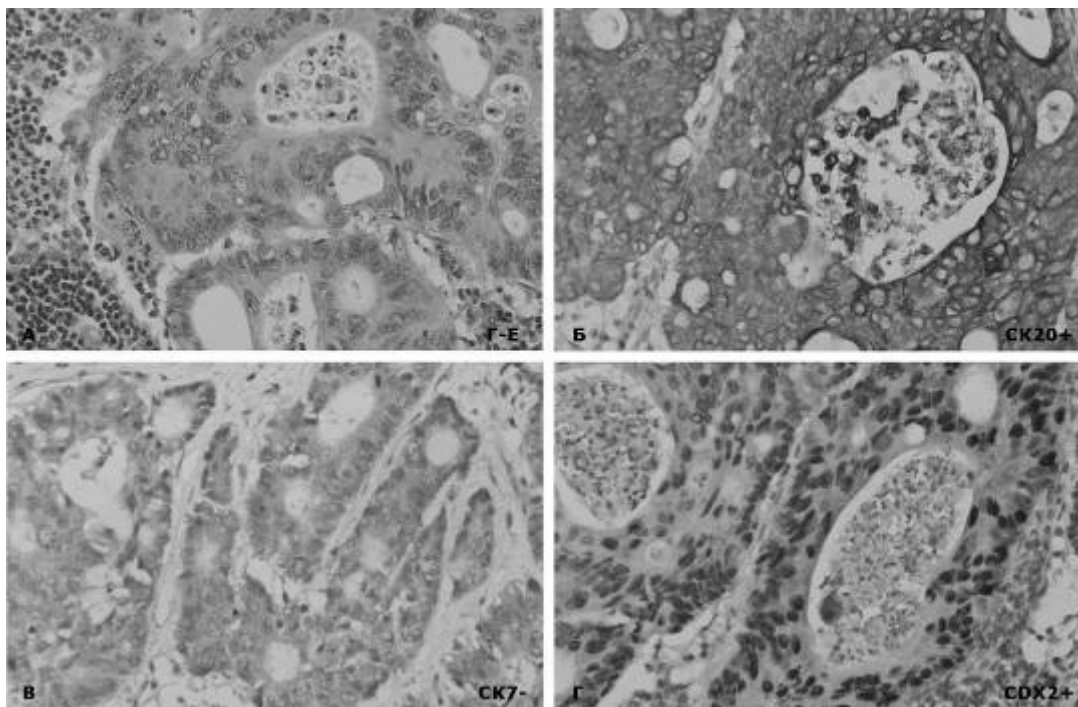


Рис. 1. Колоректальний фенотип метастатичної аденокарциноми
 А. Будова відповідає серозній помірнодиференційованій аденокарциномі, забарвлення гематоксилін – еозин (Г-Е), (×400).
 Б. Мембрано-цитоплазматична позитивна реакція з CK20, ІГХ метод з гематоксиліном Майєра (×400).
 В. Негативна реакція з CK7, ІГХ метод з гематоксиліном Майєра (×400).
 Г. Інтрануклеарна експресія CDX2, ІГХ метод з гематоксиліном Майєра (×400).

Розподіл локалізацій метастатичних аденокарцином колоректального фенотипу (%)



Рис 2. Розподіл локалізацій метастатичних аденокарцином колоректального фенотипу CK20+ / CK7-/ CDX2+, (%).

Таблиця 2
 Показники морфометричного дослідження спостережень первинних та метастатичних аденокарцином колоректального фенотипу в програмі ImageJ

Тип аденокарциноми	Площа (мкм ²) χ±SD	Периметр (мкм) χ±SD	Коефіцієнт «круглості» (параметр ImageJ) χ±SD
Первинна АК товстої кишки	38,869±12,313	23,918±3,759	0,746±0,079
Метастатична АК колоректального фенотипу	42,926±13,663	26,259±3,759	0,634±0,100
p	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Примітка: χ±SD – середнє значення ± стандартне відхилення,
 АК – аденокарцинома, різниця вважалась вірогідною при p<0,05.

У зв'язку з переважанням жінок в обох підгрупах та значну кількість спостережень метастатичного ураження репродуктивної системи, були проаналізовані вікові показники тільки жінок окремих підгруп. Таким чином, вік жінок з первинними пухлинами товстої кишки (середнє 60,54±12,25; медіана 65) був трохи більшим, ніж жінок з метастатичним ураженням репродуктивної системи (середнє 59,26±13,40; медіана 60), і тим більше жінок з метастазами колоректальних АК інших локалізацій (середнє 57,2±12,16; медіана 58,2), але вірогідної відмінності виявлено не було (всі $p > 0,05$).

Висновки

АК колоректального фенотипу СК20+/CDX2+/СК7- з падінням ступеня диференціювання можуть набувати СК7+ статусу в окремих пухлинних патернах, що з огляду на високі відсотки серед пацієнтів жінок та перевагу метастатичного ураження яєчників потребує розширення ІГХ панелі маркерами виключення (наприклад СА-125, рецепторів естрогенів). Жінки із метастазами АК колоректального фенотипу (особливо якщо він знаходиться поза межами репродуктивної системи) більш молоді, ніж жінки з первинною пухлиною товстої кишки, що говорить про стрімку дисемінацію таких раків при невеликому обсязі первинного джерела; вірогідно саме це дозволяє колоректальним АК опинитись в категорії раків без первинної локалізації.

Перспективи подальшого дослідження

Визначення морфологічних та імуногістохімічних прогностичних факторів стрімкої дисемінації метастатичних аденокарцином колоректального фенотипу в порівнянні із первинними пухлинами товстої кишки є перспективним напрямком подальшого дослідження цієї категорії раків невідомої первинної локалізації.

References

1. Pavlidis N, Pentheroudakis G. Cancer of unknown primary site. The Lancet. 2012; 379(9824):1428-1435. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61178-1.
2. Choi J, Nahm JH, Kim SK. Prognostic clinicopathologic factors in carcinoma of unknown primary origin: a study of 106 consecutive cases. Oncotarget. 2017; 8(37): 62630–62640. doi: 10.18632/oncotarget.16021.
3. Clinical practice guidelines in oncology of the National Comprehensive Cancer Network. Colon cancer (version 1.2018 – January 18, 2018). [Internet]. Available from: <https://www.nccn.org/about/news/ebulletin/ebulletindetail.aspx?ebulletinid=1359>.
4. Vajdic CM, Goldstein D. Cancer of unknown primary site. Aust Fam Physician. 2015; 44(9):640-643.
5. Lin F, Haiyan Liu. Immunohistochemistry in Undifferentiated Neoplasm / Tumor of Uncertain Origin. Arch Pathol Lab Med. 2014;138:1583-1610. doi: 10.5858/arpa.2014-0061-RA.
6. Greco FA. Molecular diagnosis of the tissue of origin in cancer of unknown primary site: useful in patient management. Curr Treat Options Oncol. 2013;14(4):634-642. doi: 10.1007/s11864-013-0257-1.
7. Poslavska OV. Vyznachennia liniinykh rozmiriv ta ploshch okremykh morfolohichnykh ob'ektiv na mikrofotohrafiakh za dopomohoiu prohramy ImageJ. [Determination of linear dimensions and square surfaces areas of morphological objects on micrographs using ImageJ software]. Morphologia. 2016;10(3):377-81. (Ukrainian).
8. Poslavska OV, Shponka IS, Gritsenko PO, Alekseenko OA. Morfometrychniy analiz pancitokeratyn-negatyvnykh neoplastychnykh uragen limfatychnykh vusliv shii [Morphometric analysis of pancytokeratin-negative neoplastic damages of the lymphatic nodes of the neck]. Medicni perspektivi. 2018;23(1):30-37. (Ukrainian).

Реферат

ОСОБЕННОСТИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО ФЕНОТИПА КАРЦИНОМ НЕИЗВЕСТНОЙ ПЕРВИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

Пославская О.В., Шпілька І.С., Гриценко П.О.

Ключевые слова: раки без первичной локализации, колоректальный рак, СК20, CDX2, СК7.

Среди раков неизвестной первичной локализации аденокарциномы традиционно остаются наиболее частым гистологическим типом опухолей. Подтип аденокарциномы с колоректальным фенотипом (СК20 +, СК7-, CDX2 +), имеет сравнительно лучший прогноз благодаря более эффективной системе процедур, разработанной в течение последних двух десятилетий для рака толстой кишки. Точная верификация метастазов колоректальных раков может вызывать трудности из-за сходства метастазов первичных гастро-интестинальных, панкреато-билиарных или муцинозных карцином женской репродуктивной системы, симулирующих характеристики первичных раков толстой кишки и наоборот. Цель работы - исследовать комплекс морфологических, морфометрических и иммуногистохимических характеристик метастазов колоректальных карцином в сравнении с первичными опухолями толстой кишки для совершенствования диагностических алгоритмов. Материалы и методы. В работе проведен ретроспективный анализ биопсийного материала 37 пациентов (29 женщин и 8 мужчин) с метастазами без первичной локализации, которые после иммуногистохимического исследования оказались колоректальными карциномами, в возрасте от 28 до 81 лет (среднее 58,46 ± 12,28; медиана 58) и 41 наблюдения послеоперационного материала пациентов с первичной опухолью толстой кишки (24 женщины и 17 мужчин в возрасте от 27 до 76 лет (среднее 60,56 ± 12,81; медиана 64). Результаты исследования. Анализ распределения локализаций метастатических аденокарцином обнаружил преимущественное поражение женской репродуктивной системы: 18 из 37 (48,65%) (13 из которых (35,13%) приходилось на яичники), морфологически эти наблюдения приобретали черты папиллярной серозной умереннодифференцированной аденокарциномы. Возраст женщин с первичной карциномой кишечника (среднее 60,54 ± 12,25; медиана 65) был немного больше, чем женщин с метастатическим поражением репродуктивной системы (среднее 59,26 ± 13,40; медиана 60), и тем более женщин с метастазами колоректальных раков других локализаций (среднее 57,2 ± 12,16; медиана 58,2) (все $p > 0,05$). Выводы. Аденокарциномы колоректального фенотипа СК20 + / CDX2 + / СК7- с падением сте-

пени дифференцировки могут приобретать CK7 + статуса в отдельных опухолевых паттернах, что, учитывая высокие проценты среди пациентов женщин и преимущество метастатического поражения яичников, нуждается в расширении иммуногистохимической панели маркерами исключения (например CA-125, рецепторов эстрогенов).

Summary

PECULIARITIES OF COLORECTAL PHENOTYPE OF CARCINOMA OF UNKNOWN PRIMARY ORIGIN

Poslavska O. V., Shponka I. S., Hrytsenko P. O.

Key words: carcinoma of unknown primary origin, colorectal cancer, CK20, CDX2, CK7.

Among cancers of unknown primary origin, adenocarcinomas are traditionally the most common histological type of tumours. Carcinoma of a colorectal phenotype (CK20 +, CK7-, CDX2 +) has a relatively more favourable prognosis due to a more efficient system of procedures developed over the past two decades for colon cancer treatment. Accurate verification of metastases of colorectal carcinomas can be difficult due to the similarity of metastases of primary gastrointestinal, pancreatic-biliary or mucinous carcinomas of female reproductive system, simulating the characteristics of primary colon cancer and vice versa. The aim of this work is to investigate the complex of morphological, morphometric and immunohistochemical characteristics of colorectal carcinomas metastases in comparison with primary colon tumours in order to improve diagnostic algorithms. Materials and methods. A retrospective analysis was based on the biopsy material of 37 patients (29 women and 8 men) aged 28 to 81 years (mean age 58.46 ± 12.28 , median 58) with metastases produced by cancers of unknown primary origin, which were later confirmed by the immunohistochemical study as colorectal carcinomas and on 41 follow-up postoperative material of patients with primary colon cancer in 24 women and 17 men aged from 27 to 76 years (mean 60.56 ± 12.81 , median 64). The analysis of the distribution of metastatic carcinoma distribution revealed a typical affection of the female reproductive system: 18 out of 37 (48.65%), and in 13 of those cases (35.13%) ovaries were affected). Morphologically these changes developed the features of papillary serous moderately differentiated carcinomas. The age of women with primary intestinal adenocarcinoma (mean 60.54 ± 12.25 , median 65) was slightly higher than in women with metastatic invasion of the reproductive system (mean 59.26 ± 13.40 , median 60), and than in women with colorectal carcinoma metastases detected to localized in other regions (mean 57.2 ± 12.16 ; median 58.2) (all $p > 0.05$). Conclusions. Carcinomas of colorectal phenotype CK20 + / CDX2 + / CK 7 depending on a decrease in the degree of their differentiation can develop CK7 + status in individual tumours patterns that when taking into account the high percentages among female patients and the prevalence in metastatic ovarian affection, requires the elaboration of the immunohistochemical panel by exclusion markers (e.g. CA-125, estrogenic receptor).