

A colorectalis carcinomák grade meghatározása

Bogner Barna
PTE Pathológiai Intézet
70. Pathologus Kongresszus
Rezidensi fórum

A CRC grade meghatározással kapcsolatos problémák

- Mi a definíciója? Grade = differenciáció???
- Ma alapján határozzuk meg – a strukturális disztorzió foka, a cytologiai atypia, a mirigyképző hajlam%-a vagy is-is? - Milyen nagyítással történje a grade meghatározása?
- Hány osztatú rendszerben történjen a meghatározása?
- Befolyásolja-e a szöveti típus a grade meghatározását?
- A tumor domináns komponense vagy a legrosszabbul differenciált része alapján történjen, figyelembe vehető-e a növekedési szélben lévő dedifferenciált terület?
- Biopsziás mintából meghatározható-e a grade, ha igen hány biopsziás minta elegendő a meghatározáshoz?
- Interobserver és intraobserver változatosság a grade meghatározásában
- Segíthetik-e az ancilláris technikák a grade meghatározását?
- Van- a grade meghatározásának a fenti problémák tükrében valós, a kezelést befolyásoló prognosztikus jelentősége?

A grade definíciói

- Dukes regarded grading merely as a measure of the „**pace**” of growth. (1932)
- A grade döntően a **növekedés gyorsaságát** méri, így a hatását a műtét és a recidíva (DFS) vagy a beteg halála (OS) között eltelt időnek tükröznie kell.(Grinell RS Ann Surg 1938,108:500-533.)
- Histological grading of cancer may be defined as an attempt to measure **tumour aggressiveness**, i.e. the capacity to spread, metastasize and ultimately kill. (Jass JR... Morson BC.. et al: Histopathology 1986, 10:437-459.)
- A szöveti grade meghatározásának jelentősége colorectalis carcinomákban azon a feltételezésen alapul, hogy **a mirigyképző hajlam összefüggést mutat a daganat biológiai agresszivitásával**. A rosszul differenciált vagy high grade tumorok esetében szignifikánsan alacsonyabb a gyógyulás esélye, mint a low grade tumorok esetében. (Gagliardi G ...Talbot I. B J Surg 1995,82:599-602)

A grade meghatározásának történeti alakulása

- 1893 - von Hanseemann DP: Studien über die Spezificität, den Altruismus und die Anaplasie der Zellen
- 1928 - Rankin és Broders a differenciált sejtek arányát határozták meg – „the higher the differentiation, the lower the the power of reproduction”. A mirigyképző hajlam, a nyákképzés és a mitotikus aktivitás alapján grade I-IV kategóriát dolgoztak ki.
- 1929 –Stewart és Spies – elsőként próbálták a gradet biopsziás mintán meghatározni, a papilláris elrendeződést, az invazivitás fokát, a sejtmagsorok számát, a magpolaritás megtartottságát, a magok méretét és alakját, a chromasiát és a mirigyképző hajlamot és a stroma mennyiségét vizsgálva szintén négyosztatú rendszert dolgoztak ki.
- 1931 – MacCarthy a gazda szervezet védekező képességét is figyelembe vette a differenciáció mellett. Mindegyik faktort kedvező prognosztikus jellegnek tartotta és mindegyik megléte esetén 3-as faktoral növelte az életkilátásokat.
- 1932 – **Dukes** a Broders sémát alapul véve kidolgozta a saját rendszerét. Véleménye szerint a tumort egészében kell vizsgálni, a széli dedifferenciációt nem vette figyelembe. Mivel szerinte a grade a növekedés tempóját reprezentálja, ezért az Ő grade meghatározása szoros összefüggést mutat a stádiummal. A rosszul differenciált tumor gyorsabban növekszik és ezért szükségszerűen előrehaladottabb stádiumot is jelent. Nem ajánlotta a biopszia alapján történő gradinget, mivel tapasztalata szerint az esetek 80%-ban a tumor a sebészi reszekátum alapján sokkal rosszabbul differenciált mint a biopszia alapján.
- 1937 – **Dukes** kidolgozza a saját négyosztatú rendszerét, de a mucinosus carcinomákat kizárja a gradingből.
- 1939-ben Grinell bemutatja a valaha írt legbővebben illusztrált grading rendszert – figyelembe véve a papilláris és glandularis karaktert, az invazivitást, a magpolaritást, az extracellularis mucin secretiot, a sejtmagok, méret-, alakbeli változatosságát és a mitotikus aktivitást. Numerikus és nem numerikus a felsorolt jellegeket összegző gradálást dolgozott ki.
- 1958-ban 2447 rectum carcinomás esetük alapján **Dukes és Bussey** 3 osztatú gradet kezd el használni, feltehetőleg a korábbi III-as és IV-es gradet összevonva. Sajnálatos módon Dukes soha nem publikálta a 3 grade meghatározásának pontos definícióját, melynek köszönhetően egységesen elfogadott grading szisztéma azóta sincs a világban.

THE GRADING AND PROGNOSIS OF CARCINOMA OF THE COLON AND RECTUM

ROBERT S. GRINNELL, M.D.
NEW YORK, N. Y.

TABLE XIV

FOLLOW-UP RESULTS ACCORDING TO GRADE AND DUKES' CLASSIFICATION COMBINED

	A ₁	A ₂	A ₃	B ₁	B ₂	B ₃	C ₁	C ₂	C ₃
Cases.....	18	6	2	25	22	11	2	16	22
Five-year survivors:									
Cases.....	18	6	2	18	9	6	0	6	3
Per cent.....	100%	100%	100%	72%	41%	55%	—	38%	14%
Five-year survivors with- out evidence of dis- ease:									
Cases.....	18	6	2	13	9	4	0	6	3
Per cent.....	100%	100%	100%	52%	41%	36%	—	38%	14

The index is calculated using the formula:

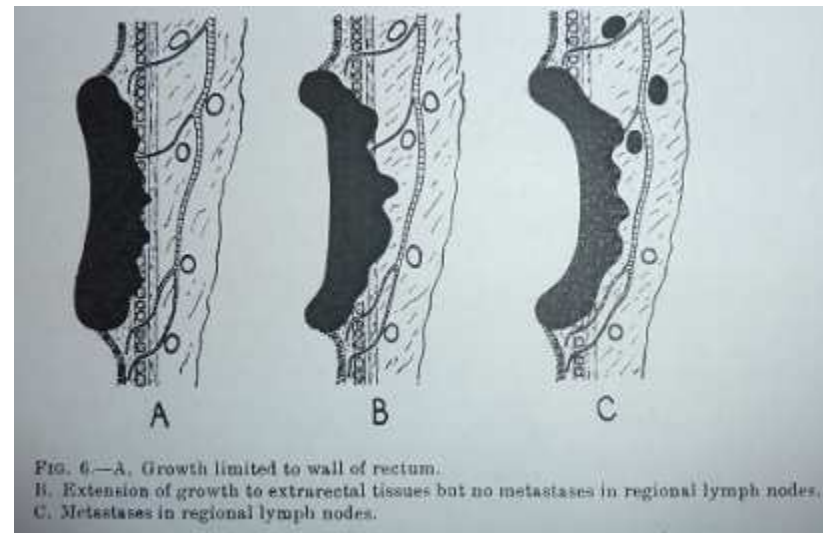
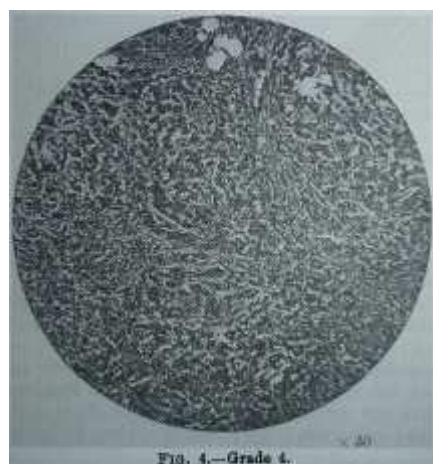
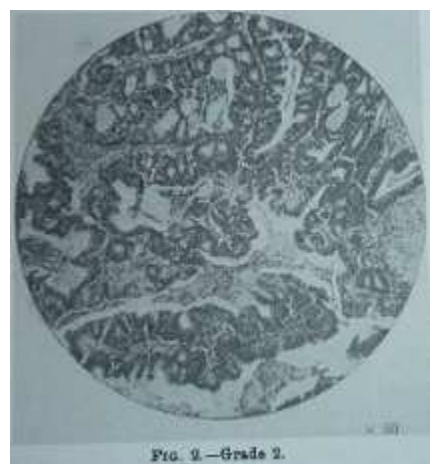
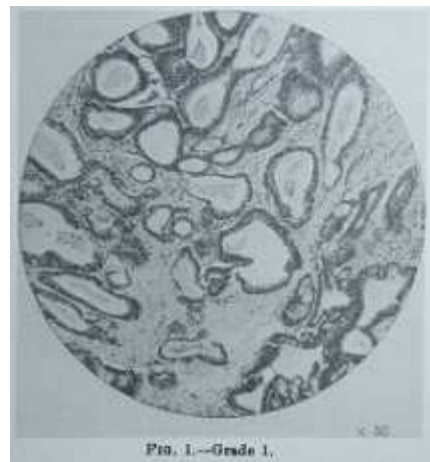
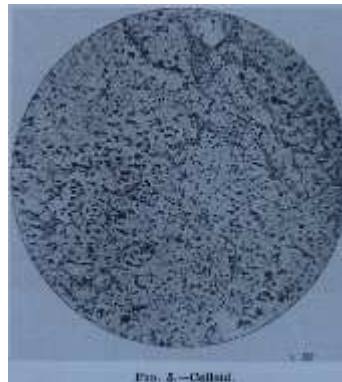
$$NPI = [0.2 \times S] + N + G$$

Where:

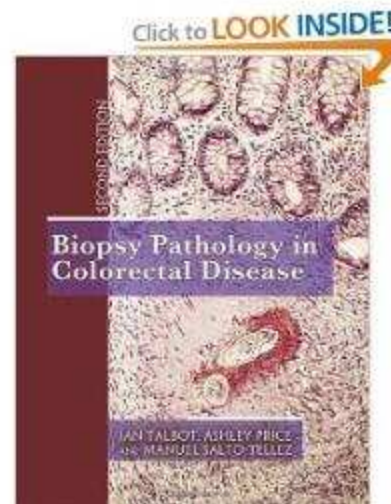
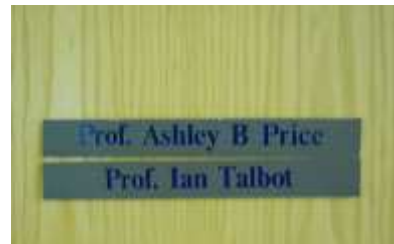
- **S** is the size of the index lesion in centimetres
- **N** is the number of lymph nodes involved: 0 = 1, 1-3 = 2, >3 = 3
- **G** is the grade of tumour: Grade I = 1, Grade II = 2, Grade III = 3

Score	5-year survival
>/=2.0 to </=2.4	93%
>2.4 to </=3.4	85%
>3.4 to </=5.4	70%
>5.4	50%

Section of Pathology
 President—W. D. NEWCOMB, M.D.
 [December 1, 1936]
 Histological Grading of Rectal Cancer
 By CUTHBERT DUKES, M.D.
 (Pathologist to St. Mark's Hospital, London)



1. A grade meghatározás természetes és praktikus módja a tumorok osztályozásának.
2. Az eltérő grádusú tumoroknak élesen elkülönülő túlélési mutatókkal kell rendelkeznie.
3. Ez a prognózisban mutatkozó különbség főként annak köszönhető, hogy a műtét időpontjáig a rosszabbul differenciált tumorok mélyebbre és távolabb terjednek mint a jobban differenciáltak.



Grading = 😊 ???

Jelenleg használatos grading szisztémák

Az Egészségügyi Minisztérium módszertani levele „A tápcsatornából vett diagnosztikus szövetminták kórszövettani feldolgozásáról” (1. módosított változat):

Általános irányelvek

Patológiai grading:

- a tumor differenciáltsági foka (a mirigyes struktúra megtartottsága)(???)
- a sejtmag atípiá foka
- nagy nagyítású látóterenkénti mitózisszám (???)

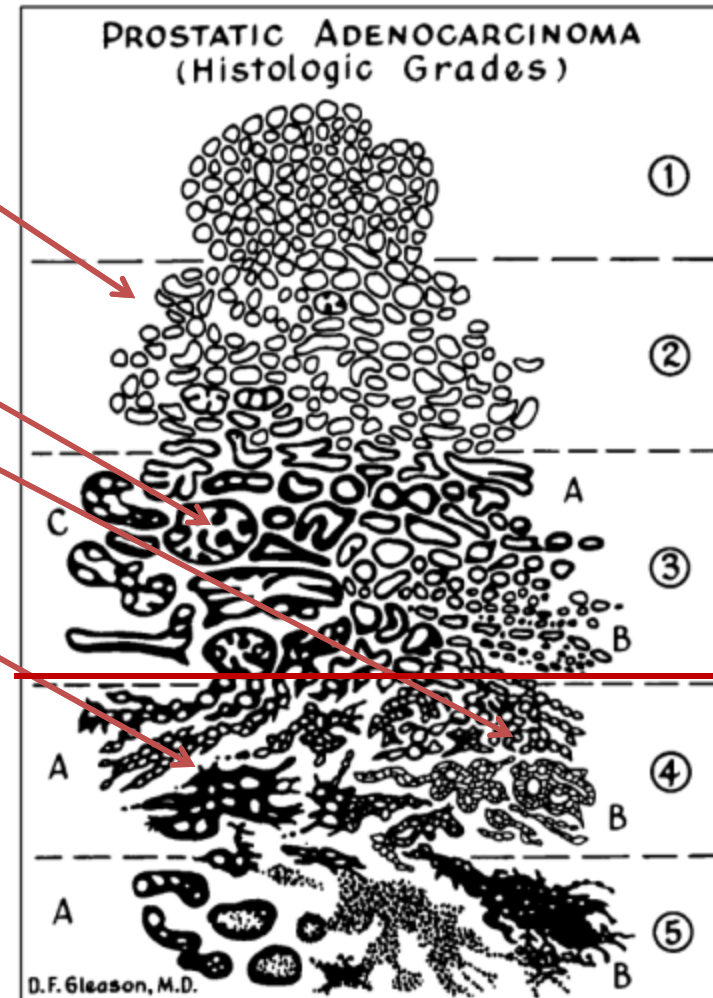
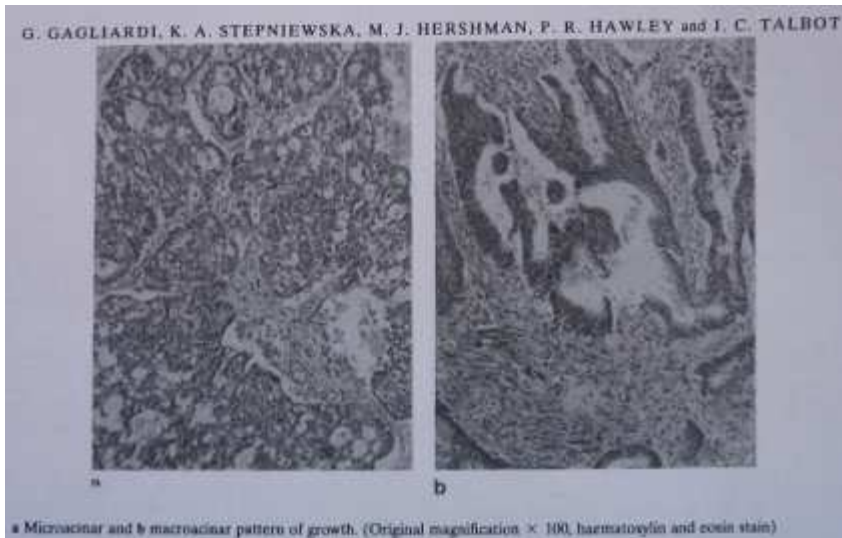
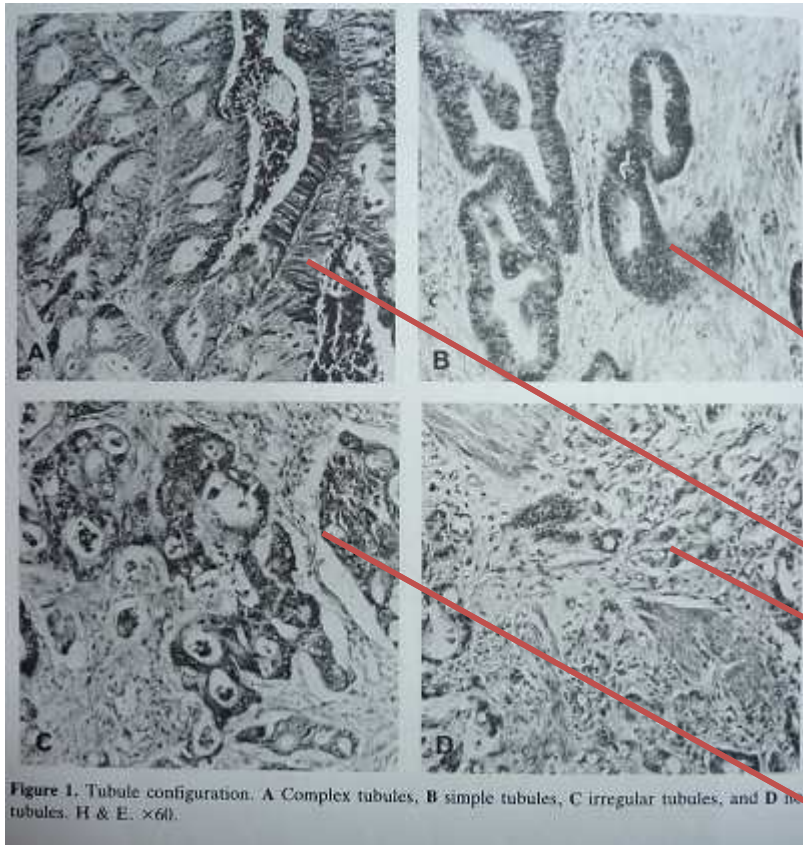
Roszzindulatú daganatok műtéti preparátuma:

- a tumor típusa, a differenciáció foka (???)

RCPATH ajánlás: **9.2 Differentiation by predominant area:**

Poorly differentiated carcinomas should be separated from other types but only if this forms the predominant area of the tumour. The criteria for poorly differentiated tumours are **either irregularly folded, distorted and often small tubules or the absence of any tubular formation.** Small foci of apparent poor differentiation are not uncommon at the advancing edge of tumours but these are insufficient to classify the tumour as poorly differentiated. There is considerable recent interest in the phenomenon of tumour budding at the advancing margin of colorectal cancers, with accumulating evidence that it might have prognostic significance.³⁶ However, this is not yet considered sufficient to justify its inclusion as a core data item.

Jass JR, Atkin WS, Cuzick J, Bussey HJR, Morson BC, Northover JMA, Todd IP: The grading of rectal cancer: historical perspectives and a multivariate analysis of 447 cases. *Histopathology* 1986,10;437-459



A jelenleg használatos grading szisztémák

Grade	Leíró nomenklatúra	kritériuma	AJCC ajánlás, TNM7
Gx	A grade nem határozható meg		
G1	Jól differenciált	>95%-os mirigy képzés	Low grade
		A mirigyek többsége (>75%) sima és rendezett	
		Nincs számottevő high-grade magokkal rendelkező komponens	
G2	Közepesen differenciált	50-95% mirigyképzés	Low grade
G3	Roszul differenciált	<50% mirigyképzés	High grade
G4	Differenciálatlan	Nincs nyilvánvaló mirigyképzés (különálló szubtypus!)	High grade

College of American Pathologists Consensus Statement 1999

Interpretációs problémák:

- A grade meghatározása nagyban szubjektív gyakorlat, kevés definiált kritérium alapján
- Számottevő interobserver változatosságot mutattak ki
- A grade fundamentális alapja ellentmondásos:

a teljes kép-,

a legrosszabb terület alapján,

önmagában a mirigyképző hajlam alapján,

a mirigyképzés és egyéb strukturális és citológiai jellegzetességek (pl. mag-grade) kombinációja alapján határozzuk-e meg

- A grade és az MSI-H státusz összefüggése a high grade tumoroknál, különösen a medullaris tumoroknál igen fontos
- Mucinosus tumorokra a grade nem alkalmazható
- Grade meghatározás CRT után

Leletezési problémák:

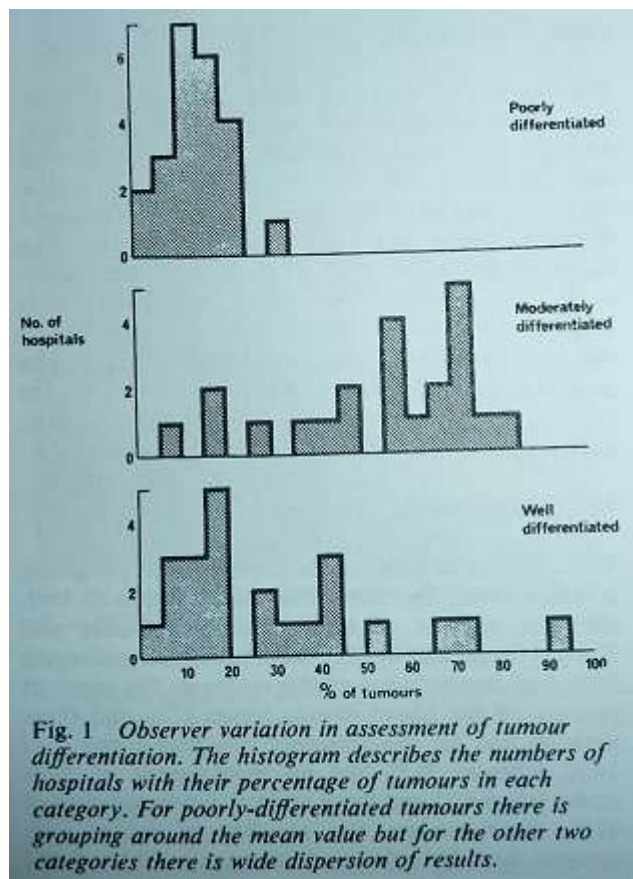
- Változatos a sebészeti patológiai leletekben alkalmazott szóhasználat
- Változó hogy numerikus vagy leíró megjelölést használnak a grade-re
- Változó hogy a tumort egyféle grade-del írják le vagy az eltérő differenciációjú területeket külön grade-del látják el
- Nem jelölik meg hogy a grade-et jelölő szám hány osztatú rendszeren alapul (2-4)
- Azokban a szöveti típusokban amit nem kellene grade-del ellátni a grade meghatározása mindig problematikus.



Ajánlás:

- A mirigyképző hajlam legyen az egyetlen jellemző amin a grade alapul és <50%-os mirigyképzés jelölje a high grade tumorokat
- A jól és mérsékelten differenciált tumorok alkossák a low grade, míg a rosszul differenciált és differenciálatlan tumorok a high grade csoportot.

High grade (Gr 3+4-es) tumorok előfordulási gyakorisága



In a trial involving 22 centres, the percentage of cancers considered to be well differentiated ranged from 3% to 93%. J Clin Pathol 1981;34:509.

High grade gyakoriság %-os átlagai		
Városi kórházak	Megyei kórházak+ÁEK	Egyetemi intézetek
20,3% (min-max: 0-52%)	16,78% (min-max: 0-45,7%)	14,7% (min-max: 10-22,6%)

Lokalizáció – grade – molekuláris jellegzetességek

[J BUON](#). 2011 Jan-Mar;16(1):84-92.

Site impact on colorectal cancer biological behavior in terms of clinicopathological and molecular features.

[Papagiorgis PC](#), [Zizi AE](#), [Tseleni S](#), [Oikonomakis IN](#), [Sofras L](#), [Elemenoglou IS](#), [Patsouris E](#), [Nikiteas NI](#).

PURPOSE:

We investigated the biological behavior of proximal and distal colorectal adenocarcinomas (CRC), intending to determine specific segmental differences, possibly arising from the distinct genetic pathways involved in their development.

METHODS:

Thirty-six proximal and 83 distal cancers were comparatively and retrospectively analyzed, regarding tumor stage, grade and Ki-67, p53 and Bcl-2 immunohistochemical expression.

RESULTS:

Proximal tumors were more likely to be poorly differentiated ($p=0.005$) and to exhibit low Ki-67 and p53 expression ($<20\%$ and $\leq 30\%$ stained nuclei respectively; $p=0.026$ and 0.0014 , respectively).

Distal lesions were more likely to be moderately differentiated ($p=0.001$), to display moderate Ki-67 expression (20-50% stained nuclei, $p=0.013$) and p53 staining higher than 30% stained nuclei ($p=0.0014$). Such segmental variations regarding mainly p53 and to a lesser extent Ki-67 were seen within most of the specific subgroups of patients (stratified by stage, grade, gender and age). An association between Bcl-2 expression and distal site was also observed among females ($p=0.008$).

CONCLUSION:

Proximal and distal cancers displayed different clinicopathological and molecular patterns, reinforcing the proposal that they are genetically and biologically different entities. Potential clinical applications of these findings should be investigated.

[Dis Colon Rectum](#). 2001 Mar;44(3):364-72; discussion 372-3.

Dukes B colorectal cancer: distinct genetic categories and clinical outcome based on proximal or distal tumor location.

[Gervaz P](#), [Bouzourene H](#), [Cerottini JP](#), [Chaubert P](#), [Benhattar J](#), [Secic M](#), [Wexner S](#), [Givel JC](#), [Belin B](#).

METHODS:

A total of 126 patients with a lymph node-negative sporadic colon or rectum adenocarcinoma were prospectively assessed with the endpoint of death by cancer. No patient received either radiotherapy or chemotherapy. p53 protein was studied by immunohistochemistry using DO-7 monoclonal antibody, and p53 and Ki-ras gene mutations were detected by single strand conformation polymorphism assay.

RESULTS:

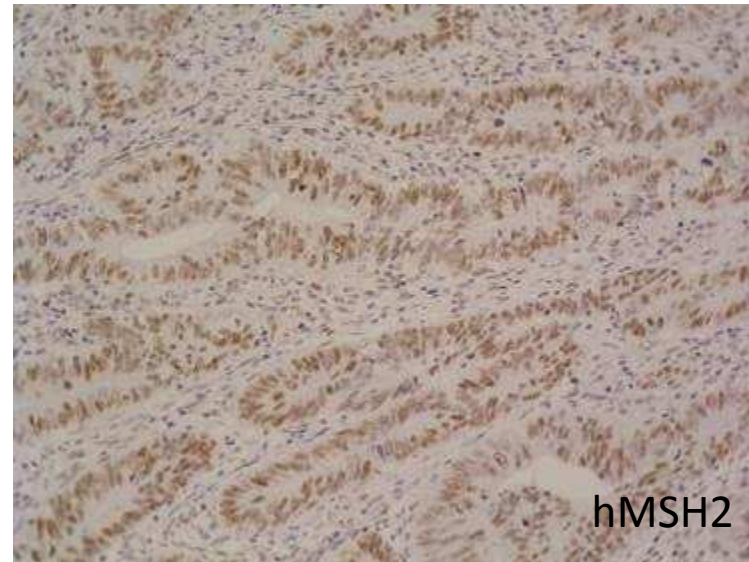
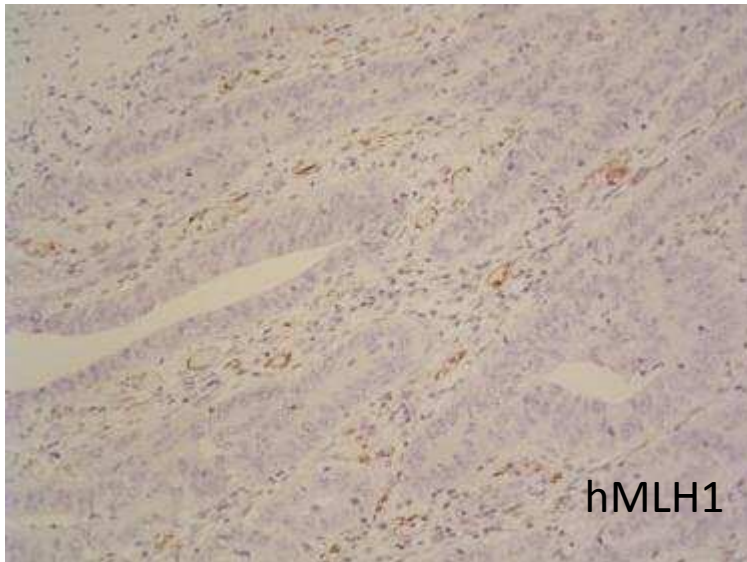
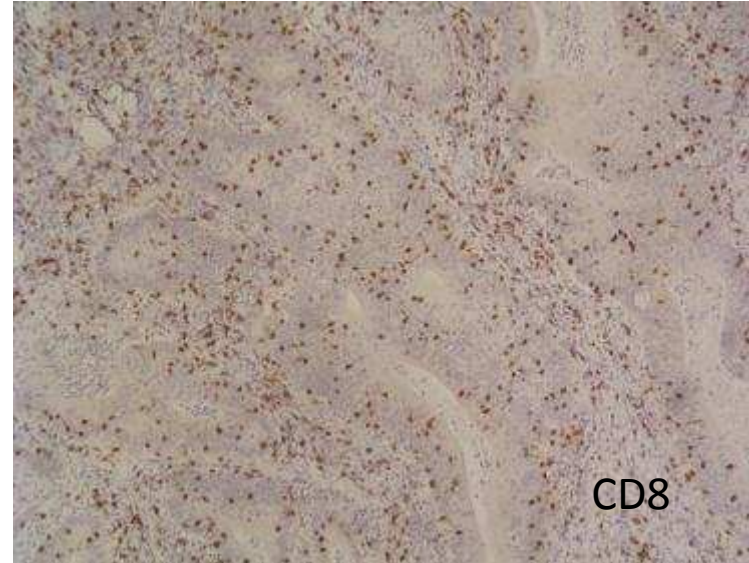
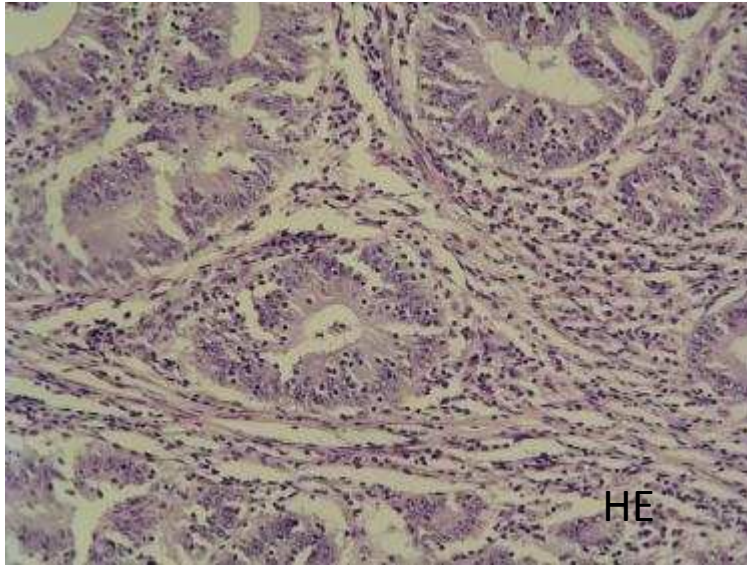
During a mean follow-up of 67 months, the overall five-year survival was 70 percent. Nuclear p53 staining was found in 57 tumors (47 percent), and was more frequent in distal than in proximal tumors (55 vs. 21 percent; chi-squared test, $P < 0.001$). For the whole group, p53 protein expression correlated with poor survival in univariate and multivariate analysis (log-rank test, $P = 0.01$; hazard ratio = 2.16; 95 percent confidence interval = 1.12-4.11, $P = 0.02$). **Distal colon tumors and rectal tumors exhibited similar molecular patterns and showed no difference in clinical outcome. In comparison with distal colorectal cancer, proximal tumors were found to be statistically significantly different on the following factors: mucinous content** ($P = 0.008$), **degree of histologic differentiation** ($P = 0.012$), p53 protein expression, and gene mutation ($P = 0.001$ and 0.01 respectively). Finally, patients with proximal tumors had a marginally better survival than those with distal colon or rectal cancers (log-rank test, $P = 0.045$).

CONCLUSION:

Eighty-six percent of p53-positive tumors were located in the distal colon and rectum. Distal colon and rectum tumors had similar molecular and clinical characteristics. In contrast, proximal neoplasms seem to represent a distinct entity, with specific histopathologic characteristics, molecular patterns, and clinical outcome.

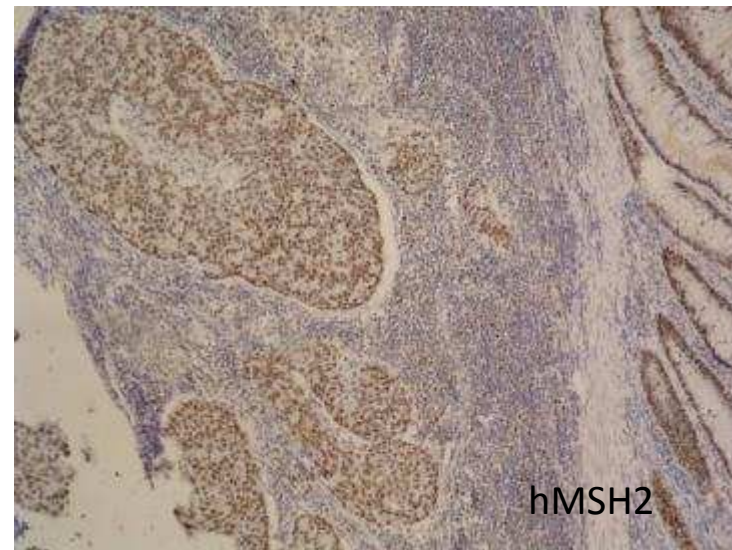
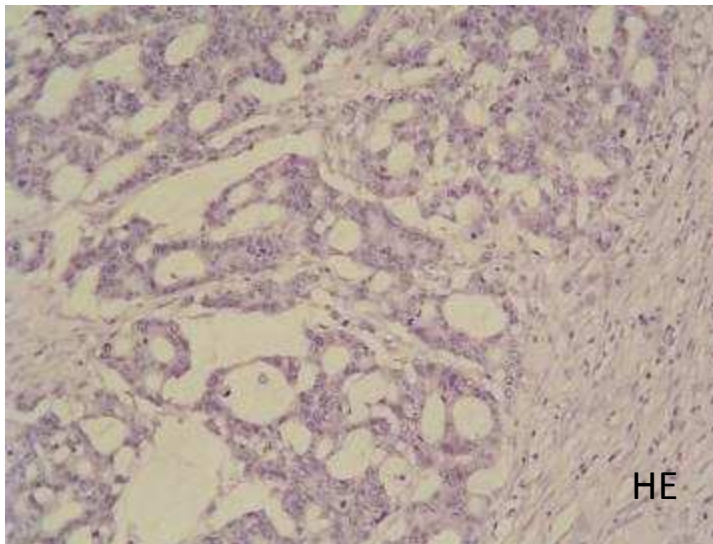
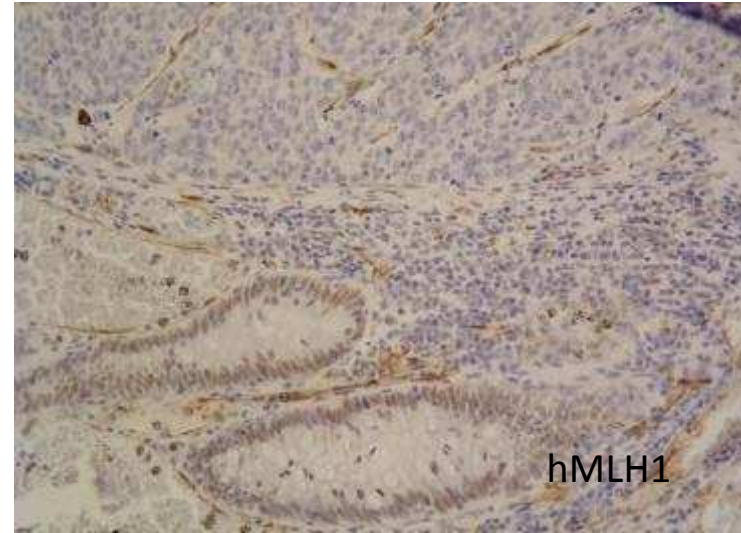
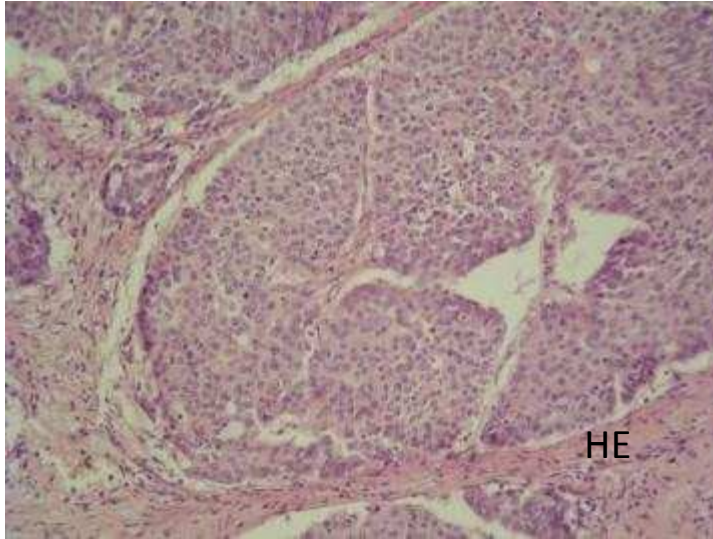
Mismatch repair státusz -MSI

66 éves férfi perforált
coecum tumora,
pT4bpN0(22/0)cM0

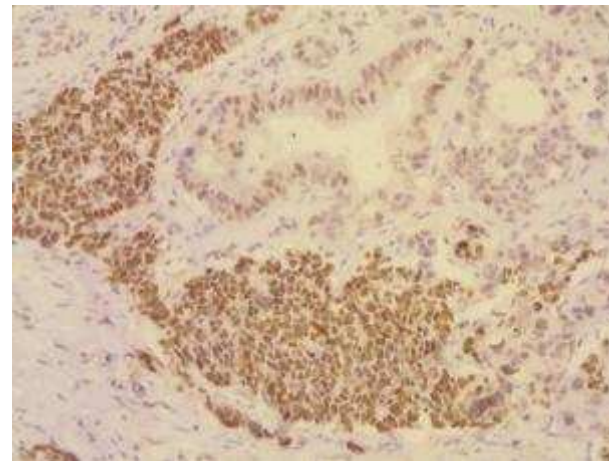
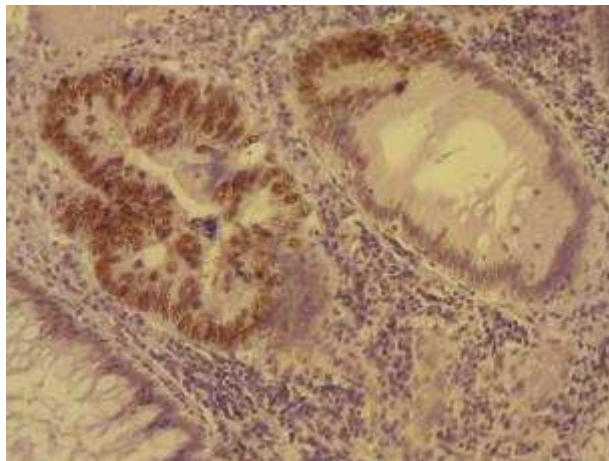
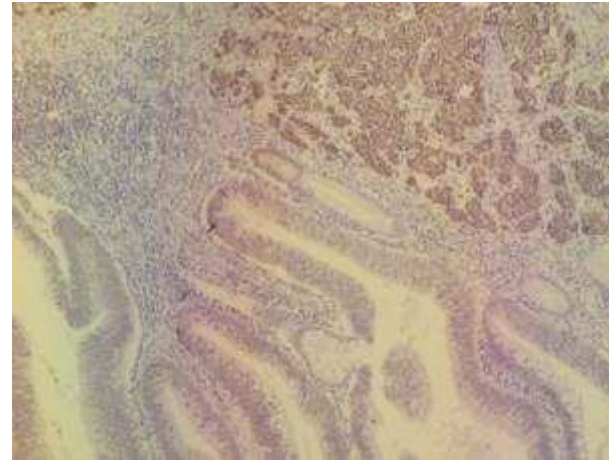
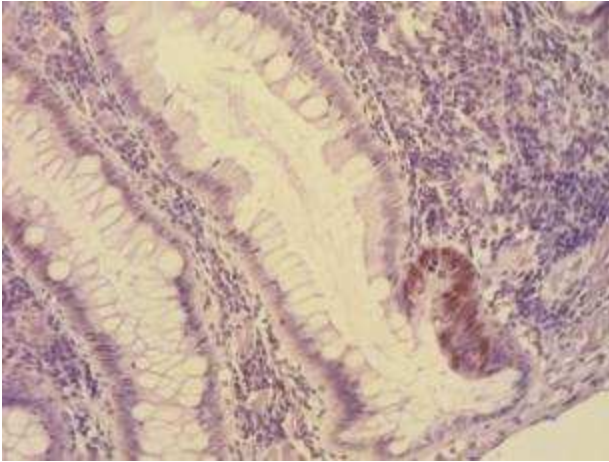


Mismatch repair státusz -MSI

37 éves férfi colon
ascendens tumora,
pT3dpN0(15/0)cM1?



Intratumoralis heterogenitás a grade-ben és az MSH2 expresszió erősségében – a molekularis és fenotípusos mintázat összefüggése



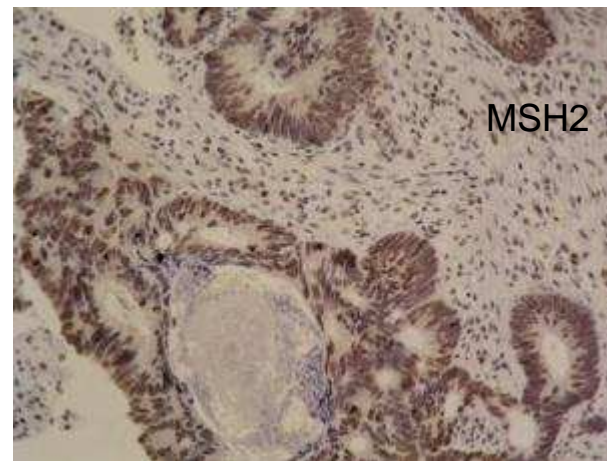
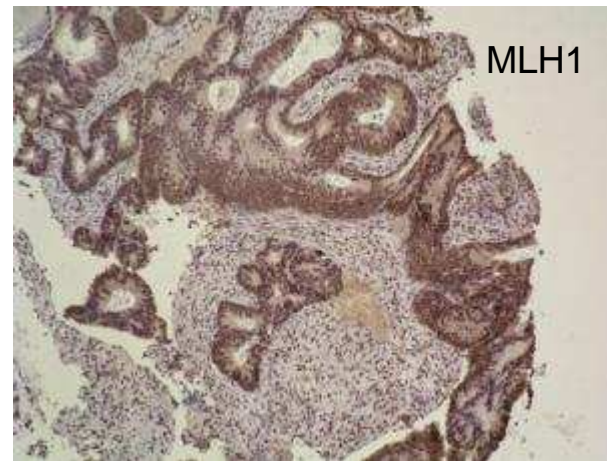
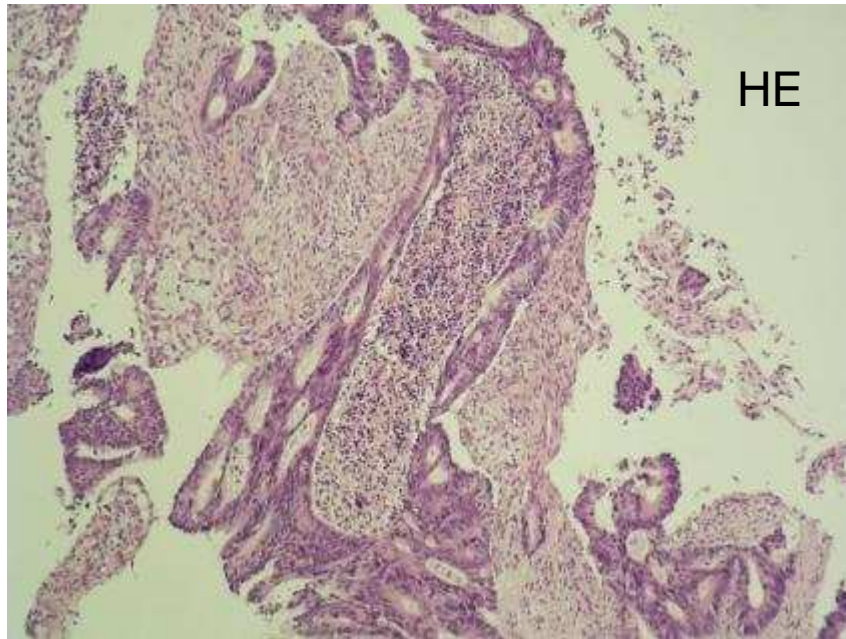
Shia J et al: Value of immunohistochemical ...Am J Surg Pathol 2005;29:96-104.

A sporadikus mismatch repair-defektív colon carcinomák kimutatásához használható morfológiai kritériumok

Faktor	Definíció	Referencia
Tumor lokalizáció	Proximális vagy a flexura lienalistól distalisan elhelyezkedő	Jass és mtsai
Növekedési mintázat	Expanzív vagy infiltratív	Jass és mtsai
Differenciáció	Jól, mérsékelten / rosszul vagy differenciálatlan	Hamilton és Aaltonen
Mucinosus differenciáció	Mucin a daganat >50%-ban	Hamilton és Aaltonen
Heterogén differenciáció	Roszul differenciált, mucinosus és/vagy pecsétgyűrűsejtes komponensek a daganat <50%-ban	Alexander és mtsai
Necrosis	„Piszkos necrosis” a mirigyek lumenében	Greenson és mtsai
Crohn-szerű reakció	≥ 3 nodularis vagy Crohn-szerű lymphoid aggregatum 10 NNL-ként	Young és mtsai, Graham és mtsai
Peritumoralis lymphocyták	Az infiltráló tumor mentén elhelyezkedő sapka- vagy köpeny- szerű lymphocytás szegély	Young és mtsai
Tumor infiltráló lymphocyták	≥7/10 NNL	Smyrk és mtsai, Jass és mtsai

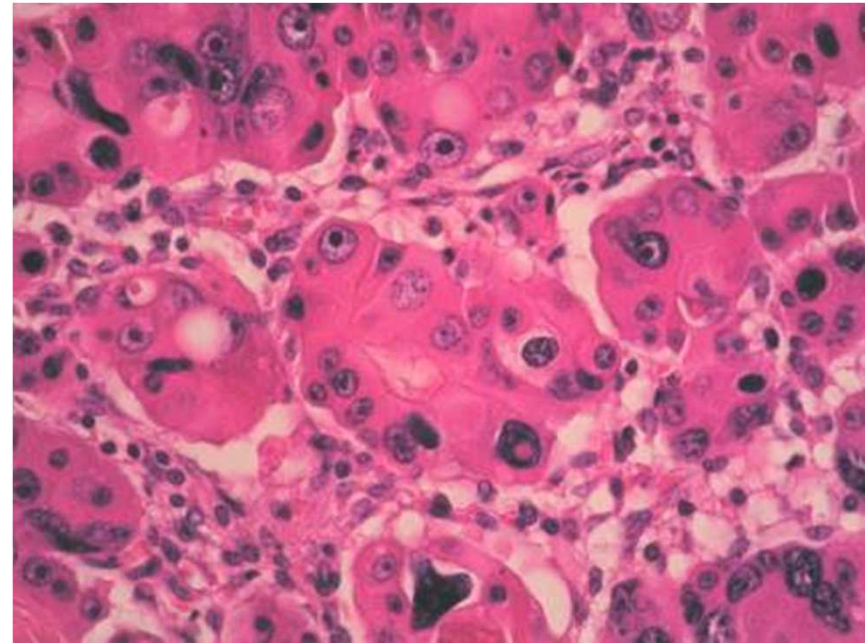
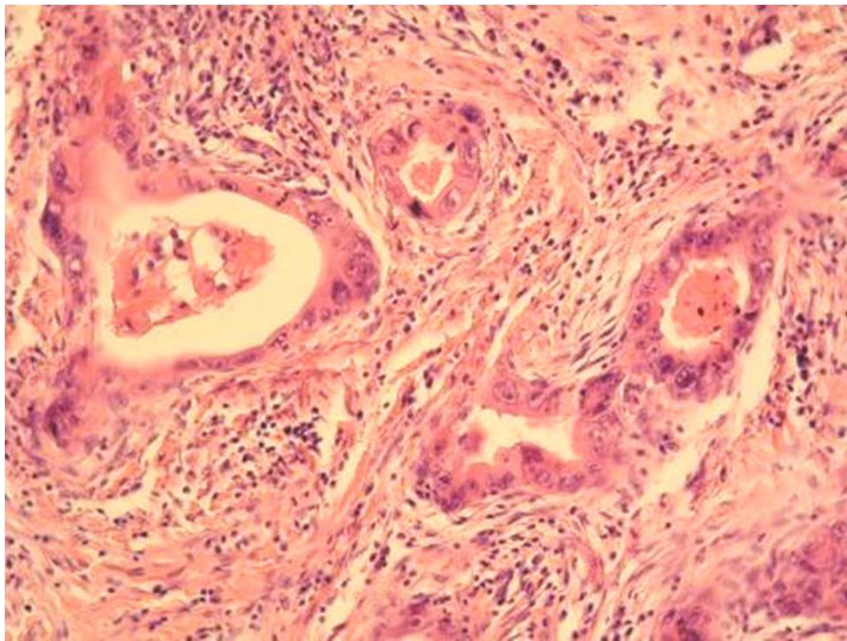
Am J Clin Pathol 2008;129:238-244.

Mismatch repair státusz –MSS



43 éves nő, inoperábilis flexura
lienalis adenocarcinoma, multiplex
májáttétel

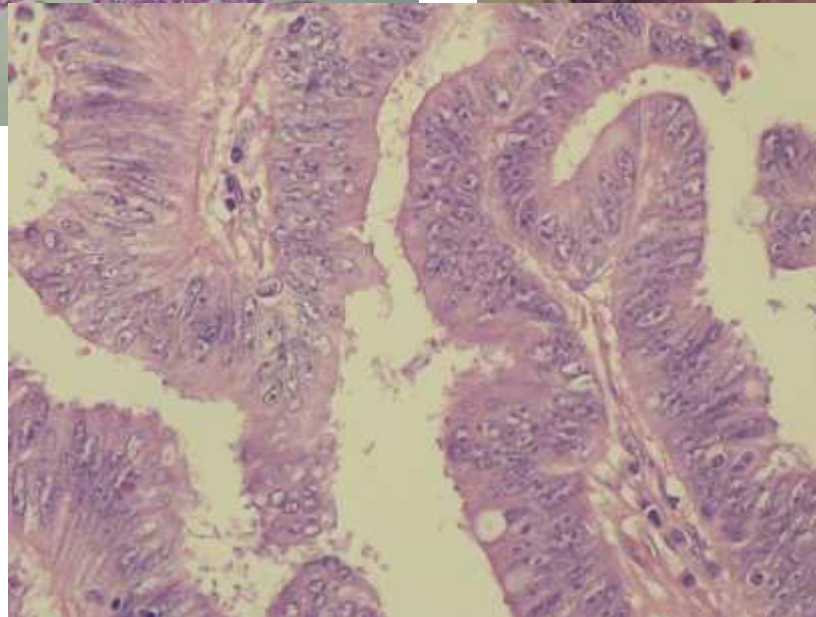
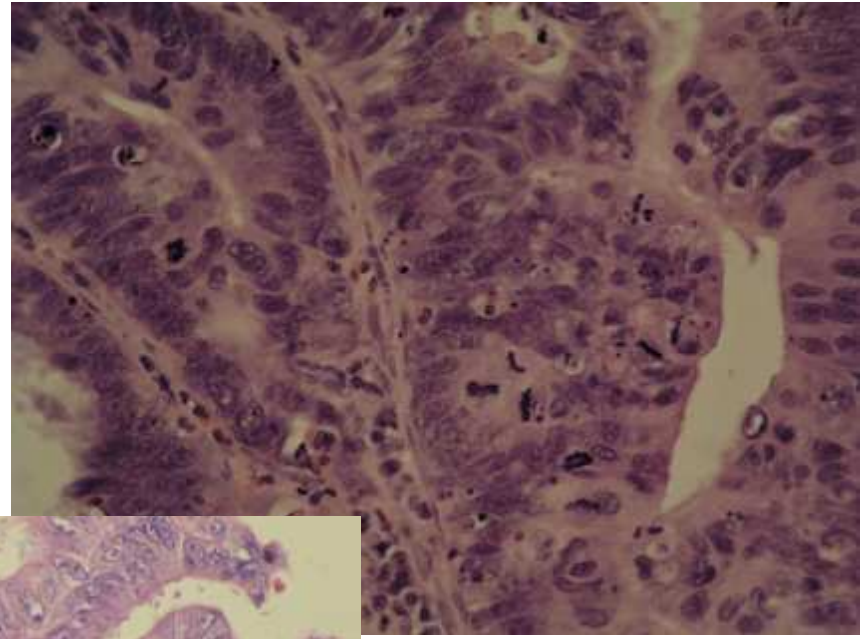
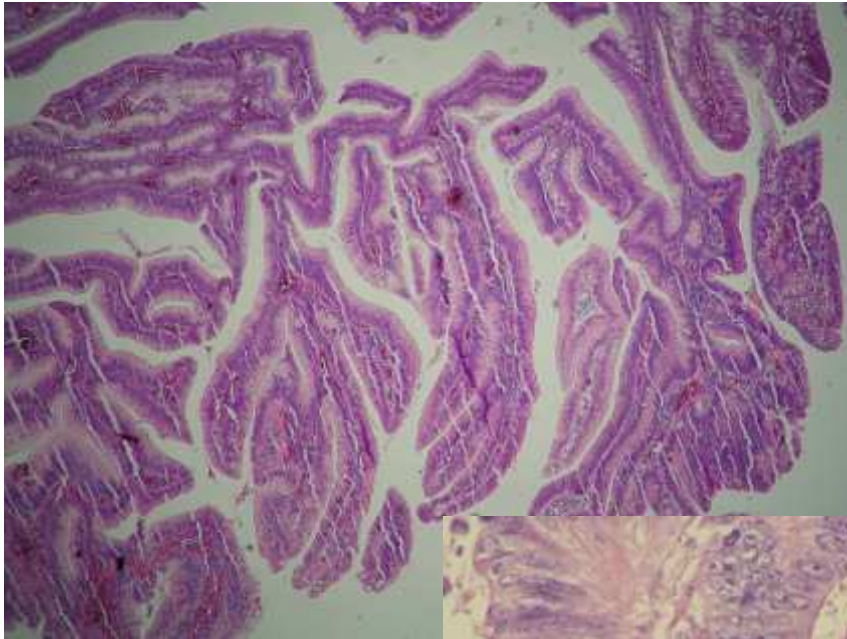
CRT okozta citológiai elváltozások és oncocytoid átalakulás – a CRT és grade kapcsolata!



Vieth M, Quirke P, Lambert R et al: Annex to Quirke et al. Quality assurance in pathology in colorectal cancer screening and diagnosis: annotations of colorectal cancer. Virchows Arch 2010 Nov 9. [Epub ahead of print]

	Normál	Low grade intraepithelialis neoplasia (LGIEN)	High grade intraepithelialis neoplasia (HGIEN)	Invazív carcinoma
Mirigyek	nincs elágazódás	villózus	elágazódó, cribriform, irreguláris, szolid	elágazódó, cribriform, irreguláris, szolid
Kiterjedés	felülről lefelé	a felszínig	a felszínig	oldalirányú expanszió
Epithelialis differenciáció	alulról felfelé	alulról felfelé	nincs kiérés a felszín felé	
Kehely sejtek	++	(+)	-/(+) retronuclearis, dysplasticus	
Sejtmag sorok száma	1	2-3	2-5	változó
Sejtmag méret	kis bazális	paliszád állású	megnagyobbodott	vesicularis
Kromatin	kevés	+	++	++ / +++
Magvacska	nincs	nincs	kevés, kicsi	számos / nagy

Low és high grade intraepithelialis neoplasia



Következtetések – nyitva maradt kérdések - ajánlások

- A grade a daganat növekedési sebességét és agresszivitását leíró prognosztikus jelleg.
- Szorosan összefügg a mirigyképző hajlammal, de pusztán ennek százalékos arányával leírni túlságos leegyszerűsítés lenne – a mirigyek irregularitása, komplexitása átmérője is fontos jellemző, mely a stromához való viszonyal is kapcsolódik ezen kívül a szöveti-, citológiai- és molekuláris jellegzetességek is befolyásolják a meghatározását .
- A grade és a stage és a lokalizáció is szorosan összefügg, de vannak kivételek.
- A colorectalis carcinomákra is jellemző a grade intratumoralis heterogenitása, ilyenkor a grade meghatározása a rosszabbul differenciált vagy a predomináns terület alapján történjen?
- Biopsziás mintából ne nyilatkozzunk a grade-re, mivel a felszínes minták nem reprezentálják a tumor egészét!
- Legyen egységes a grade meghatározásunk – kövessük a TNM7 ajánlását és használjuk a kétosztatú low grade / high grade beosztást.

Köszönöm a figyelmet!