

КОРЕЛАЦИЯ МЕЖДУ ТУМОРНАТА КОАГУЛАЦИОННА НЕКРОЗА И КЛИНИКО-ПАТОЛОГИЧНИ ПАРАМЕТРИ ПРИ СВЕТЛОКЛЕТЪЧЕН КАРЦИНОМ НА БЪБРЕКА

Снежана Спасова, Петър Генев

Клиника по обща и клинична патология, УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна

CORRELATION BETWEEN COAGULATIVE TUMOR NECROSIS AND CLINICOPATHOLOGIC PARAMETERS IN CLEAR CELL RENAL CELL CARCINOMA

Snezhana Spasova, Peter Ghenev

Department of General and Clinical Pathology, St. Marina University Hospital of Varna

РЕЗЮМЕ

Въведение: Туморната некроза (ТН) многократно е свързана с по-големия размер на туморите, по-ниска диференциация и по-висока пролиферативна активност и въпреки че патогенезата ѝ остава до голяма степен неизвестна, се смята, че тя представлява индиректен маркер за по-агресивно биологично поведение на тумора.

Цел: Целта на проучването е да се изследва наличието на некротични участъци в метастатичен и неметастатичен светлоклетъчен карцином на бъбрека и да се анализира корелацията им с клинично-патологични параметри.

Материали и методи: Проучването включва данни от 43 пациенти, които са претърпели радикална нефректомия. Изследваните патологични признаци включват размер на първичния тумор, метастази в регионални лимфни възли и отдалечени метастази, TNM стадиране, диференциация според нуклеарния грейд и наличие на коагулационна туморна некроза. Степента на туморната некроза е оценена и регистрирана като отсъстваща, фокална (<10% от тумора), умерена (10% -30%) или екстензивна (> 30%). Туморната некроза се дефинира като наличие на микроскопски установена коагулационна некроза, характеризираща се с хомогенни полета от дегенеративни и некротични клетки. Фокуси на хиалинизация, хеморагии и фиброза са отчетени като вторични дегенеративни промени в туморната тъкан. Корелацията между ТН и другите клинично-патологични параметри се установи чрез непараметрични анализ.

ABSTRACT

Introduction: Tumor necrosis (TN) has been repeatedly associated with larger tumors, higher grade, and higher proliferative activity, and, although the pathogenesis of TN remains largely unknown, it is believed that TN represents an indirect indicator of biologically aggressive tumor behavior.

Aim: The aim of study is to examine the presence of necrotic areas in metastatic and non metastatic clear cell renal cell carcinoma (ccRCC).

Materials and Methods: This analysis included data from 43 patients who underwent a radical nephrectomy. The pathologic features studied included histologic subtype, tumor size, regional lymph node involvement, distant metastases, TNM stage groupings, nuclear grade, and coagulative tumor necrosis. The extent of tumor necrosis was semiquantitatively assessed and recorded as absent, focal (<10% of the tumor area), moderate (10%–30% of the tumor area) or extensive (>30% of the tumor area). TN was defined as the presence of microscopic coagulative necrosis, characterized by homogeneous clusters and sheets of degenerating and dead cells. Histopathologic regressive changes, such as cystic transformation, hyalinization, and fibrosis, were not considered to represent necrosis. The relationship between TN and other clinicopathologic parameters was studied by nonparametric tests.

Results: Necrosis was found in all cases with metastases. In cases without metastases, necroses were found in only 6 (18%). The presence of TN was statistically significantly associated with the presence of metastases, high T stage, large tumor size, poor differentiation ($p<0.05$). No statistically significant associ-

Резултати: Наличие на некроза в туморния паренхим се откри при всички случаи с метастази. В случаите без метастази некроза се открива само при 6 (18%). Наличието на ТН статистически значимо корелира с наличието на метастази, голям размер на първичния тумор и лоша ядрена диференциация ($p < 0,05$). Не се наблюдава статистически значима връзка между възрастта или пола и наличието на ТН.

Заклучение: Наличието на коагулационна туморна некроза в хистологичните препарати от първичния тумор може да е прогностичен маркер, който лесно да бъде прилаган в комбинация с по-традиционни показатели (размер на тумора, TNM стадий и ядрен грейд). Уместно е оценките на туморната некроза да се включат като прогнозна променлива в използваните прогностични модели. По-нататъшно изследване на механизмите на коагулационната туморна некроза ще доведе до по-доброто познаване на туморната биология и ще подобри прогнозата, проследяването и лечението на пациенти с БКК.

Ключови думи: бъбречно-клетъчен карцином (БКК), коагулационна туморната некроза, клиничко-патологични параметри

УВОД

През последните десетилетия се наблюдава огромен напредък в разработването на нови противотуморни лекарства за лечение на метастатичен бъбречноклетъчен карцином (БКК). Доскорошната неспецифична монотерапия с имуномодулиращи средства се измества от съединения, които са селективно насочени към ясно определени молекулярни пътища (като тирозинкиназни и mTOR инхибитори.). В ерата на новите таргетни терапии е все по-налагаща се нуждата от дефиниране на прогностични и предиктивни средства при тези пациенти. Туморната некроза (ТН) при БКК би могла да бъде фактор, прогнозиращ агресивността на протичане, въпреки че работната група на UICC (Union for International Cancer Control) все още не го е включила като прогнозна променлива при оценката на този вид тумори (1, 2). Малко се знае и за прогностичната роля на ТН при различните субтипове на БКК и каква е нейната роля при нарастването на тумора. Освен това патогенезата на хистологичната некроза в БКК все още е до голяма степен неизвестна. Някои автори предполагат, че ТН е резултат от бързата пролиферация и нарастване на тумора и изоставане в ангиогенезата (3). Съ-

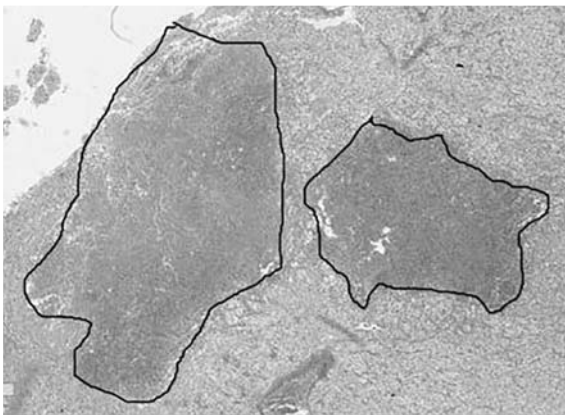
ществуват съобщения, показващи участието на Т-лимфоцити, и че ТН е резултат на имунния отговор на гостоприемника (4). Независимо от това, предвид наблюдаваното прогностично значение на ТН от много изследователи и разработването на таргетни молекулярни терапии, е необходимо да се проучи прогностичната роля на туморната некроза.

Conclusion: It is clear that coagulative tumor necrosis is a prognostic marker that can be readily applied in combination with more traditional variables (i.e., tumor size, TNM stage, and nuclear grade) to enhance the performance of renal cell carcinoma scoring algorithms and predictive models currently in use to help assign follow-up and treatment in the clinical setting.

Keywords: clear cell renal cell carcinoma, coagulative tumor necrosis, clinicopathologic parameters

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Проучването включва 43 пациенти с извършена радикална нефректомия в Клиниката по урология на УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна. Анализирани са всички налични парафинови блокчета от всеки пациент (от 3 до 5 броя), изработени в Клиниката по обща и клинична патология. Направени са дигитални снимки на случаите с помощта на сканиращ апарат Leica Aperio Scan Scope AT2 device (Aperio Technologies, Vista, CA) с последващи анализи на сканираните образи с Image Scope V12.1.0.5029 (Aperio). В изследването са включени само пациенти със светлоклетъчен хистологичен тип на бъбречния тумор (сБКК), съгласно класификацията на WHO от 2016. Чрез морфометричен анализ на цялата площ на хис-

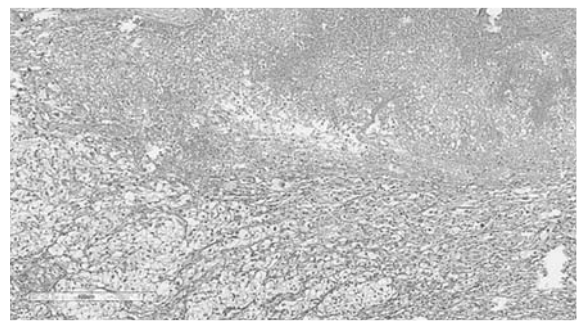


Фиг. 1. Измерване на площта на ТН чрез Aperio Image Scope XEx20

тологичните препарати е измерен процентът на некротичните полета (Фиг. 1) и са оценени съответно като липсващи – 0%, фокални <10%, умерени - 10-30%, екстензивни - >30%. За туморна некроза се прие наличието на микроскопски видима зона на коагулационна некроза, представена от хомогенни полета от дегенеративни и некротични клетки (Фиг. 2). Фокуси на хиалинизация, хеморагии и фиброза са отчетени като вторични дегенеративни промени в туморната тъкан, но не и като некроза. Анализира се корелацията на туморни некрози с големината на тумора, ядрения грейд и наличието на лимфни или далечни метастази. За статистически анализ и установяване

Таблица 1. Асоциация на туморни некрози с патологични параметри на сБКК

	Некрози		
	Налични 18	Липсващи 25	
Размер на първичния тумор			$p < 0,05$
<4 cm	1	5	
4 <7 cm	1	12	
7 <10 cm	6	6	
>10	9	2	
Т стадий			$p < 0,01$
pT1-T2	5	20	
pT3-T4	13	5	
Nuclear grade			$p < 0,05$
1	0	5	
2	9	16	
3	8	4	
4	1	0	
Ангажирани регионални лимфни възли			$p < 0,05$
pNx и pN0	6	25	
pN1 и pN2	12	0	



Фиг. 2. Репрезентативен пример на коагулационна туморна некроза, XEx20

на връзката между туморните некрози и клиничко-патологичните параметри се използваха chi-square и Fisher test и стойности $p < 0,05$ се приеха за статистически сигнификантни.

Таблица 2. Клиничко-патологични параметри при пациенти със сБКК – с и без метастази

	С метастази 12	Без метастази 31
Възраст		
<65	8 (66,66%)	17 (54,84%)
>65	4 (33,33%)	14 (45,16%)
Пол		
Жени	3 (25%)	11 (35,48%)
Мъже	9 (75%)	20 (64,52%)
Т – стадий		$p \text{ value } < 0,05$
pT1a	0	2 (6,45%)
pT1b	0	14 (45,16%)
pT2a	3 (25%)	4 (12,90%)
pT2b	0	3 (9,67%)
pT3a	6 (50%)	8 (25,80%)
pT3b	2 (16,66%)	
pT3c	0	
pT4	1 (8,33%)	
Nuclear grade		
1	0	5 (16,12%)
2	6 (50%)	20 (64,51%)
3	5 (41,66%)	6 (19,35%)
4	1 (8,33%)	0
Туморни некрози		$p \text{ value } < 0,01$
Липсващи	0	25 (80,65%)
Налични		
- фокални	2 (16,66%)	3 (9,67%)
- умерени	4 (33,33%)	3 (9,67%)
- екстензивни	6 (50%)	0

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

От анализираниите 43 случая 12 са с доказани лимфни или далечни метастази към момента на диагностициране на тумора, а 31 – без метастази. 14 от тях са жени, 29 – мъже. Пациентите са във възрастовия диапазон 35-87 год. Наблюдава се статистически сигнификантна корелация между наличието на туморни некрози и Т-стадия ($p < 0,01$), размера на тумора ($p < 0,05$), както и по отношение ядрения грейдинг ($p < 0,05$) и нодалното ангажиране от тумор ($p < 0,05$). (Табл. 1. Асоциация на туморни некрози с патологични параметри на сБКК). Статистически значима асоциация се наблюдава и при метастатичен сБКК и наличието и площта на ТН. При всички пациенти с метастази се наблюдават хистологични ТН, като половината от тях (50%) показват екстензивни по площ, 1/3 (33.33%) – умерено изразени, и само 16.66% - фокални. Респективно никой от пациентите без метастази не показва екстензивни некротични полета, дори напротив – при 80% от тях не се наблюдават никакви. Едва в около 10% са фокални и още в толкова – умерени (Табл. 2. Клинично-патологични параметри при пациенти със сБКК – със и без метастази).

Светлоклетъчният карцином на бъбрека има непредвидимо биологично поведение. Най-често за прогностични фактори се използват стадият, ядреният грейд по Fuhrman и хистологични вариации (напр. саркоматоидна или рабдоидна компонента) (5,6,7). В допълнение обект на изследване са клетъчната пролиферация, некроза, апоптоза, ангиогенеза (8) и др.

Наличието на туморни некрози е предложено като прогностичен фактор при различни видове тумори като колоректален (9), уротелен (10), белодробен (11) и карцинома на млечната жлеза (12). За значението им при БКК има различни проучвания с противоречиви изводи. Това вероятно се дължи на различния брой случаи при всяко от изследванията, включването на различен хистологичен тип тумори - основно светлоклетъчен и папиларен. Установено, е че най-голямо значение от хистологичните варианти ТН имат при светлоклетъчния БКК (13). Различия се наблюдават и в оценяването на некрозите. Някои автори определят значението на макроскопски проявените некрози (14), повечето определят коагулационните некрози на хистологичен препарат (ХЕ), но те използват и различни скали за оценяването им: някои разделят некрозите на >90%, 50-90%, <50%; други ги отчитат като 0 - без некрози; 1 - по малко от 30%, 2 – 30-70%; 3 – над 70%, а трети - просто налични или липсва-

щи (15,13). В резултат на различни проучвания от много медицински центрове с участие на големи кохорти се доказва, че наличието на ТН корелира както с различни морфологични белези, така и с клинично-лабораторни показатели (15). Редица автори доказват, че пациенти с изразени ТН са с повишен 2-3 пъти риск за смърт (16), затова някои автори да го включват в различни монограми като SSIGN (17).

Разпространено е схващането, че туморните некрози са резултат от бързия растеж на туморния паренхим, който не може да се кръвоснабди адекватно от по-бавно оформящата се съдова мрежа (3). Честото откриване на ТН в хиповаскуларни зони е доказателство за това. От друга страна понякога дори в малки по размери тумори и в зони с изразена микроваскуларна плътност се откриват некрози (18, 19). Друга теория, която се проучва, е, че некрозата е резултат от имунен отговор срещу туморната тъкан - при агресивните тумори с множество некрози по-често и в по-голяма степен се открива лимфоцитарен инфилтрат. Въпреки това ясни доказателства, че ТН е резултат от цитолитичното действие на тумор-специфични Т-лимфоцити, засега липсват (4).

Некрозите в солидните тумори могат да се наблюдават след противотуморно лечение (вторични като последствие от „митотична катастрофа” - смърт на клетката след деление в резултат на непоправими ДНК-увреди), или по време на туморното развитие (неадекватното снабдяване с кислород и нутриенти на бързоделещите се туморни клетки).

Доскоро некрозата се считаше за пасивен процес и нерегулирана форма на клетъчна смърт. Преди няколко десетилетия стана ясно, че некрозата може да функционира и като един алтернативен програмиран начин на клетъчна смърт, предизвикана от същите клетъчни сигнали, които индуцират апоптозата. Настоящи данни показват, че ТН може да имат двойна роля – при възникване след противотуморна терапия може да осигури благоприятен за пациента отговор поради разрушаване на клетките и активиране на имунния отговор от загиналата туморна клетка; от друга страна некрозата, получена по време на развитието на тумора, може да води до по-агресивни и по-бързо растящи тумори (механизми на туморна некроза клетки).

В обобщение, коагулационната ТН се явява прогностичен маркер с добър потенциал главно при светлоклетъчен БКК. Ето защо е уместно рутинно да бъде регистрирано наличието или от-

съствието им при оформяне на патологичния отговор. Оценяването се извършва лесно, без значителни усилия от патолога, при положение че се изследват адекватен брой хистологични блокчета. Уместно е оценките на туморната некроза да се включат като прогнозна променлива в използваните прогностични модели. По-нататъшно изследване на механизмите на коагулационната туморна некроза ще доведе до по-доброто познаване на туморната биология и ще подобри прогнозата, проследяването и лечението на пациенти с БКК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Srigley JR, Hutter RVP, Rapporteur MD, Gelb AB, Henson DE, Kenney G, et al. Current Prognostic Factors – Renal Cell Carcinoma. *Cancer*. 1997;80(5):994–6.
2. Zisman A, Pantuck AJ, Wieder J, Chao DH, Dorey F, Said JW, deKernion JB, Figlin RA. Risk Group Assessment and Clinical Outcome Algorithm to Predict the Natural History of Patients With Surgically Resected Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol*. 2002;20(23):4559–4566.
3. Brinker DA, Amin MB, de Peralta-Venturina M, Reuter V, Chan DY, Epstein JI. Extensively Necrotic Cystic Renal Cell Carcinoma: A Clinicopathologic Study With Comparison to Other Cystic and Necrotic Renal Cancers. *Am J Surg Pathol*. 2000;24(7):988–95.
4. Uzzo RG, Kolenko V, Froelich CJ, Tannenbaum C, Molto L, Novick AC, et al. The T Cell Death Knell : Immune-mediated Tumor Death in Renal. 2001;7(October):3276–81.
5. Fukatsu A, Tsuzuki T, Sassa N, Nishikimi T, Kimura T, Majima T, et al. Growth Pattern, an Important Pathologic Prognostic Parameter for Clear Cell Renal Cell Carcinoma. 2013;500–5.
6. Gasser T, Amin MB, Torhorst J, Sauter G, Mihatsch MJ. Prognostic Utility of the Recently Recommended Histologic Classification and Revised TNM Staging System of Renal Cell Carcinoma A Swiss Experience with 588 Tumors. 2000;604–14.
7. Patard J, Leray E, Rioux-leclercq N, Cindolo L, Ficarra V, Swanson DA, et al. Prognostic Value of Histologic Subtypes in Renal Cell Carcinoma : A Multicenter Experience. 2005;23(12):2763–71.
8. Minervini A, Cristofano C Di, Gacci M, Serni S, Menicagli M, Lanciotti M, et al. for Nonmetastatic Clear Cell Renal Cell Carcinoma : Correlation With Pathological Features and Molecular Markers. 2008;180(October):1284–9.
9. Pollheimer MJ, Kornprat P, Lindtner RA, Harbaum L, Schlemmer A, Rehak P, Langner C. Tumor necrosis is a new promising prognostic factor in colorectal cancer. *Hum Pathol*. 2010;41(12):1749–57.
10. Zigeunera R, Shariatb SF, Margulisc V, Karakiewicz P, Roscigno M, Weizerf A, Kikuchig E, Remzih M, Ramani JD, Bolenzj C. Tumour Necrosis Is an Indicator of Aggressive Biology in Patients with Urothelial Carcinoma of the Upper Urinary Tract. *Eur Urol*. 2010;57(4):575–581.
11. Swinson D, Jonesb JL, Richardsons D, Coxa G, Edwardsa JG. Tumour necrosis is an independent prognostic marker in non-small cell lung cancer: correlation with biological variables. *Lung Cancer*. 2002;37(3):235–240.
12. Leek RD, Landers RJ, Harris AL, Lewis CE. Necrosis correlates with high vascular density and focal macrophage infiltration in invasive carcinoma of the breast. 1999;79:991–5.
13. Pichler M, Hutterer GC, Chromecki TF, Jesche J, Kappel-kettner K, Rehak P, et al. Histologic Tumor Necrosis Is an Independent Prognostic Indicator for Clear Cell and Papillary Renal Cell Carcinoma. 2012;283–9.
14. Lee SE, Byun S, Oh JK, Lee SC, Chang IH, Choe G, et al. Significance of Macroscopic Tumor Necrosis as a Prognostic Indicator for Renal Cell Carcinoma. 2006;176(October):1332–8.
15. Lohse CM, Leibovich BC, Frank I, Thompson RH, Webster WS, Zinke H, et al. Histologic Coagulative Tumor Necrosis as a Prognostic Indicator of Renal Cell Carcinoma Aggressiveness. 2005;(June).
16. Amin MB, Amin MB, Tamboli P, Javidan J, Stricker H, Venturina M, Deshpande A, Menon M. Prognostic Impact of Histologic Subtyping of Adult Renal Epithelial Neoplasms: An Experience of 405 Cases. *Am J Surg Pathol*. 2002;26(3):281–91.

17. Frank I, Blute ML, Cheville JC, Lohse CM, Weaver A, Zincke H. An Outcome Prediction Model for Patients with Clear Cell Renal Cell Carcinoma Treated with Radical Nephrectomy Based on Tumor Stage, Size, Grade and Necrosis: The Ssign Score. J Urol. 2002;168(6):2395–400.
18. Cheville JC, Blute ML, Zincke H, Lohse CM, Weaver AMYL. STAGE pT1 CONVENTIONAL (CLEAR CELL) RENAL CELL CARCINOMA: PATHOLOGICAL FEATURES ASSOCIATED WITH CANCER SPECIFIC SURVIVAL. J Urol. 2001;166(2):453–6.
19. Hemmerlein B, Kugler A, Ozisik R. Vascular endothelial growth factor expression, angiogenesis, and necrosis in renal cell carcinomas. Virchows Arch. 2001;439(5):645–52.

Адрес за кореспонденция:

*д-р Снежана Спасова
Клиника по обща и клинична патология,
УМБАЛ „Св. Марина“ - Варна
бул. Христо Смирненски 1
Варна 9010, България
e-mail: dr.spasova@gmail.com*