

ZASADY POSTĘPOWANIA Z MATERIAŁEM OPERACYJNYM U CHORYCH NA RAKA JELITA GRUBEGO – STANDARDOWE I WYSOKOSPECJALISTYCZNE BADANIA DODATKOWE W RAKU JELITA GRUBEGO

ANNA NASIEROWSKA-GUTTMEJER

Zakład Patomorfologii, Centralny Szpital Kliniczny MSW w Warszawie
Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach

1. Terminologia

Rak jelita grubego jest nabłonkowym nowotworem rozwijającym się w okrężnicy lub odbytnicy. Terminem „rak” określane są przypadki, które mają zdolność dawania przerzutów. Nazwę tę w nowotworach jelita grubego stosuje się do zmian, które przekraczają mięśniówkę właściwą błony śluzowej (*muscularis mucosae*), a więc naciekają co najmniej błonę podśluzową. Rak naciekający błonę podśluzową, niezależnie od stanu węzłów chłonnych, określany jest w jelicie grubym pojęciem raka wczesnego. Nowotwory o morfologii raka gruczolowego naciekającego błonę śluzową nie wiążą się z możliwością powstania przerzutów. W tych przypadkach, aby uniknąć nieprecyzyjnej terminologii i niepotrzebnego leczenia operacyjnego, stosowane są pojęcia dysplazji/neoplazji śródnabłonkowej dużego stopnia, raka *in situ* i raka wewnątrzśluzówkowego. Ponad 90% raków jelita grubego to gruczolakoraki. Pozostałe przypadki to raki płaskonabłonkowe, neuroendokryne lub niezróżnicowane.

2. Epidemiologia

Rak jelita grubego (łącznie okrężnicy i odbytnicy) był w Polsce w 2012 r. wg danych Krajowego Rejestru Nowotworów trzecią przyczyną zachorowania na nowotwory złośliwe u mężczyzn (9450 przypadków, 13% zachorowań) i drugą u kobiet (7320 przypadków, 10% zachorowań). U mężczyzn stanowił on drugą przyczynę zgonów z powodu choroby nowotworowej (6430 przypadków, 12% zgonów) i trzecią u kobiet (5020 przypadków, 12% zgonów). Na świecie w 2008 r. zanotowano 1,23 miliona nowych zachorowań na raka jelita grubego, co stanowiło 9,7% wszystkich nowotworów. Rak jelita grubego częściej występuje jako rak sporadyczny u osób po 60. roku życia niż u młodszych i zwykle wiąże się z wieloletnim wywiadem w kierunku obecności stanów przedrakowych. Natomiast u osób przed 50. rokiem życia częściej jest uwarunkowany dziedzicznie.

3. Umiejscowienie

Większość raków jelita grubego rozwija się w esicy i odbytnicy, ale zauważalna jest tendencja do wzrostu liczby przypadków lokalizacji po prawej stronie jelita, w kątnicy, okrężnicy wstępującej i poprzecznej. Od umiejscowienia nowotworu zależą wybór metody leczenia oraz cechy makro- i mikroskopowe oceniane w preparacie operacyjnym. W leczeniu resekcyjnych raków okrężnicy stosuje się metody chirurgiczne, natomiast w rakach odbytnicy zalecana jest radio- lub chemioterapia jako leczenie neoadiuwantowe przedoperacyjne oraz procedura chirurgiczna całkowitego wycięcia tkanek *mesorectum* (*total mesorectal excision* – TME). W tabeli I przedstawiono istotne różnice w diagnostyce patomorfologicznej raka okrężnicy i raka odbytnicy zależne od metod terapii.

4. Standardowe mikroskopowe cechy raka jelita grubego

Do standardowych mikroskopowych cech raka jelita grubego zalicza się: typ histologiczny i stopień histologicznej dojrzałości wg klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (*World Health Organization* – WHO; tab. II), stopień patomorfologicznego zaawansowania pTNM, marginesy chirurgiczne, inwazję naczyń krwionośnych i limfatycznych oraz nerwów. W raku odbytnicy po leczeniu przedoperacyjnym dodatkowo określa się zmiany po terapii i stopień regresji guza. Najistotniejszym czynnikiem prognostycznym spośród wymienionych jest stopień zaawansowania nowotworu.

4.1. Typ histologiczny

Mikroskopowe cechy raka jelita grubego wg klasyfikacji WHO z 2010 r. przedstawiono w tabeli II.

Większość raków jelita grubego, ponad 90%, stanowią raki gruczolowe o immunoprofilu: keratyna 20 pozytywna, keratyna 7 ujemna i czynnik transkrypcyjny CDX2 wykazujący ekspresję dodatnią. Guzy

Tabela I. Różnice w ocenie mikroskopowej raka okrężnicy i odbytnicy

PARAMETR	RAK OKRĘŻNICY	RAK ODDBYTNICY PO RADIO- LUB CHEMIOTERAPII PRZEDOPERACYJNEJ
głębokość naciekania	pT	ypT, <i>downstaging</i>
stan węzłów chłonnych	pN, proporcja węzłów z przerzutami do węzłów bez przerzutów	ypN, proporcja węzłów z przerzutami do węzłów bez przerzutów
stopień dojrzałości (G)	G1, G2, G3	GX, G1, G2, G3
marginesy resekcji	dystalny, proksymalny	całkowite wycięcie tkanek <i>mesorectum</i> , radialny, dystalny, proksymalny
satelity/depozyty komórkowe	depozyty komórkowe, pN1c	nie można określić
stopień regresji guza	nie jest oceniany	TRG/ypT
cechy mikroskopowe	inwazja naczyń, pączkowanie <i>budding</i>	inwazja naczyń, pączkowanie <i>budding</i>
podścielisko	cechy odczynu zapalnego, nacieki ropne	efekty radiochemioterapii, cechy odczynu zapalnego

GX – nie można ocenić stopnia dojrzałości raka, G1 – rak wysoko dojrzały, G2 – rak średnio dojrzały, G3 – rak nisko dojrzały; TRG – stopień regresji guza po leczeniu przedoperacyjnym

Tabela II. Mikroskopowe cechy raka jelita grubego wg klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia z 2010 r.

A. TYP HISTOLOGICZNY RAKA JELITA GRUBEGO WG KLASYFIKACJI WHO z 2010 R.	KOD ICD-10
rak gruczolowy (<i>adenocarcinoma</i>)	8140/3
• sitowaty typu czopkiastego (<i>cribriform comedo-type adenocarcinoma</i>)	8201/3
• rdzeniasty (<i>medullary carcinoma</i>)	8510/3
• drobnobrodawkowaty (<i>micropapillary carcinoma</i>)	8265/3
• śluzowy (<i>mucinous adenocarcinoma</i>)	8480/3
• ząbkowany (<i>serrated adenocarcinoma</i>)	8213/3
• sygnetowaty (<i>signet ring cell carcinoma</i>)	8490/3
rak gruczolowo-płaskonabłonkowy (<i>adenosquamous carcinoma</i>)	8560/3
rak wrzecionowatokomórkowy (<i>spindle cell carcinoma</i>)	8032/3
rak płaskonabłonkowy (<i>squamous cell carcinoma</i>)	8070/3
rak niezróżnicowany (<i>undifferentiated carcinoma</i>)	8020/3
rak neuroendokryny o wysokiej złośliwości	
• wielkokomórkowy (<i>large cell NEC</i>)	8013/3
• drobnokomórkowy (<i>small cell NEC</i>)	8041/3
B. Stopień histologicznej dojrzałości (<i>grading</i>) raka jelita grubego	

z ujemną reakcją na keratynę 20 mogą wykazywać niestabilność mikrosatelitarną (MSI-H).

W przypadku oceny gruczolaka z rakiem wczesnym podśluzówkowym usuniętym metodą polipektomii wskazana jest ocena czynników prognostycznych. Do parametrów źle rokujących zalicza się: niski stopień dojrzałości/wysoki stopień złośliwości, margines polipektomii poniżej 1 mm oraz zajęcie naczyń limfatycznych lub krwionośnych przez komórki raka. Gruczolaki z dysplazją/neoplazją śródnabłonkową dużego stopnia lub rakiem wewnątrzśluzówkowym oraz raki wczesne z naciekaniami błony podśluzowej mogą być usuwane metodą polipektomii lub endoskopo-

wego wycięcia podśluzówkowego. Kryteria oceny ich stopnia zaawansowania miejscowego według skali Haggitta i Kikuchi przedstawiono w tabeli IV i na rycinie 1.

Do rzadziej spotykanych wariantów raka jelita grubego zalicza się:

- raka śluzowego (*mucinous adenocarcinoma*), gdy jeziora śluzu z linijnie wyścielającymi je komórkami raka lub tworzącymi w nich grupy różnej wielkości stanowią ponad 50% utkania nowotworu. Raki śluzowe z wysoką niestabilnością mikrosatelitarną (MSI-H) wykazują niski stopień złośliwości w przeciwieństwie do raków śluzowych stabilnych (MSS)

Tabela III. Kryteria oceny stopnia histologicznej dojrzałości raka jelita grubego

STOPIEŃ DOJRZAŁOŚCI	KATEGORIA	KRYTERIUM OCENY	STOPIEŃ ZŁOŚLIWOŚCI
wysoko dojrzały	G1	struktury gruczołowe stanowią > 95%	niski (<i>low</i>)
średnio dojrzały	G2	50–95% struktur gruczołowych	niski (<i>low</i>)
nisko dojrzały	G3	0–49% struktur gruczołowych	wysoki (<i>high</i>)
wysoka niestabilność mikro-satelitarna (MSI-H)	zmienna	zmienna	niski (<i>low</i>)
niezróżnicowany	G4	brak struktur gruczołowych, z produkcją śluzu lub rak neuroendokrynnny, płaskonabłonkowy lub wrzecionowatokomórkowy (sarkomatoidny)	

Tabela IV. Stopień zaawansowania raka jelita grubego wg klasyfikacji pTNM 7. wydania klasyfikacji TNM AJCC/ UICC (aktualizacja 2013 r.)**Głębokość naciekania, cecha pT**

Tis – neoplazja śród nabłonkowa/dysplazja dużego stopnia, rak *in situ*, inwazja blaszki właściwej i/lub mięśniowej błony śluzowej

T1 – naciek raka przekracza mięśniówkę właściwą błony śluzowej, obecny jest w błonie podśluzowej i nie wnika do mięśniówki właściwej – rak wczesny

Guzy w stopniu T1 usuwane metodą polipektomii lub metodą przezodbytovej endoskopowej mikrochirurgii (*trans-anal endoscopic microsurgery* – TEM) kwalifikowane są wg głębokości naciekania błony podśluzowej:

- dla polipów uszypułowanych z rakiem wg systemu Haggitta: inwazja głowy (szczytu) – poziom 1., przejście między głową i podstawą/szypułą – poziom 2., naciek podstawy szypuły – poziom 3., naciek ściany jelita w polipach nieuszypułowanych – poziom 4.
- dla polipów nieuszypułowanych z rakiem wg systemu Kikuchi (ryc. 1.) na podstawie głębokości naciekania błony podśluzowej: 1/3 górnej (sm1), środkowej, 2/3 (sm2), dolnej 1/3 (sm3)

T2 – naciekanie mięśniówki właściwej

T3 – naciek przechodzący poza mięśniówkę właściwą do tkanek przedsurowicówkowych z określeniem głębokości: płytkie i nieprzekraczające połowy grubości oraz głębokie przekraczające połowę grubości tkanek przedsurowicówkowych

T4a – naciekanie powierzchni trzewnej surowicówki

T4b – naciekanie przylegających struktur

Liczba węzłów chłonnych z przerzutami, cecha pN

N1a – 1 węzeł chłonny z przerzutem

N1b – 2 do 3 węzłów chłonnych z przerzutami

N1c – depozyty komórkowe bez obecności przerzutów w węzłach chłonnych

N2a – 4 do 6 węzłów chłonnych z przerzutami

N2b – 7 i więcej węzłów chłonnych z przerzutami

Przerzuty odległe, cecha pM

M0 – brak przerzutów odległych

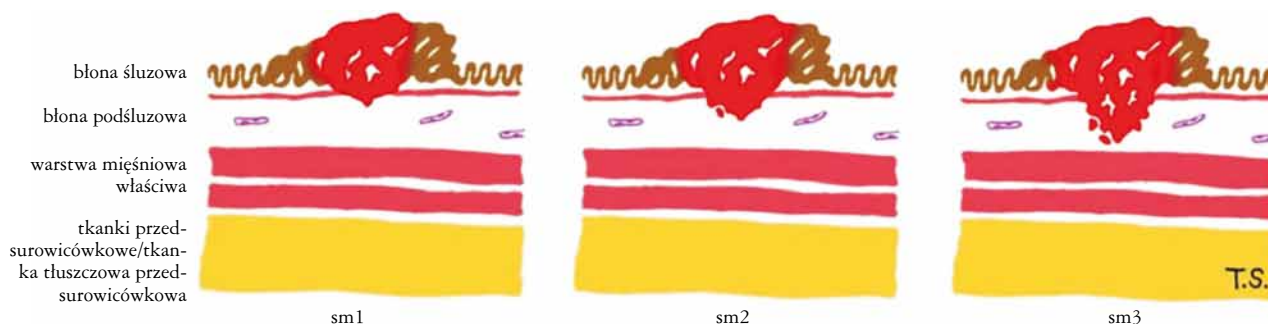
M1a – przerzuty do jednego narządu: płuco, wątroba, pozaregionalne węzły chłonne

M1b – przerzuty do więcej niż jednego narządu lub sieci

lub o niskiej stabilności (MSI-L), które są nowotworami o wysokiej złośliwości. W przypadku obszarów raka śluzowego poniżej 50% rozpoznaje się jedynie składnik śluzowy w raku gruczołowym;

- raki śluzowokomórkowe (*signet ring cell carcinoma*), które gromadzą śluz w cytoplazmie, modelując jądro komórkowe obwodowo. Ten wariant raka jelita grubego rozpoznawany jest w przypadkach,

gdy stanowi on ponad 50% masy nowotworu. Komórki raka śluzowokomórkowego mogą występować w jeziorach śluzu lub naciekać podścielisko. W rzadkich przypadkach ten typ raka może charakteryzować wysoka niestabilność mikrosatelitarna (MSI-H) i wtedy rokuje on lepiej niż w pozostałych przypadkach (MSS i MSI-L), gdy rokuje źle i charakteryzuje się agresywnym przebiegiem;



Rycina 1. Schemat oceny głębokości naciekania błony podśluzowej przez wczesnego raka podśluzówkowego po endoskopowej dysekcji podśluzówkowej według Kikuchi

Źródło: Quirke P, Riso M, Lambert R, von Karsa L, Vietz M. Quality assurance in pathology in colorectal cancer screening and diagnosis - European recommendations. *Virchows Arch* 2011; 458 (1): 1-19. doi: 10.1007/s00428-010-0977-6 (Figure 1). Rycinę opublikowano za zgodą wydawcy.

- rak rdzeniasty (*medullary carcinoma*) – został opisany ok. 20 lat temu; stanowi on ok. 2% raków jelita grubego i wiąże się z wysoką niestabilnością mikrosatelitarną (MSI-H). Stosunkowo często występuje w lokalizacji prawostronnej jelita grubego w postaci egzofitycznego guza o rozprężającym marginesie wzrostu. Wykazuje ujemny odczyn immunohistochemiczny na keratynę 20, keratynę 7 i czynnik transkrypcyjny CDX2. Charakteryzuje się zwykle MLH1 i tylko w pojedynczych przypadkach z brakiem ekspresji MSH2;
- rak ząbkowany (*serrated adenocarcinoma*) – przypomina swoją budową mikroskopową siedzący ząbkowany polip (*sessile serrated polyp*). Może on produkować śluz i tworzyć struktury sitowate lub beleczkowe. Rak ząbkowany jelita grubego może wykazywać niską lub wysoką niestabilność mikrosatelitarną, mutację genu *BRAF* lub metylację wysp CpG (*CpG island hypermethylation*);
- rak drobnobrodawkowaty (*micropapillary adenocarcinoma*) – zwykle stanowi składnik klasycznego raka gruczolowego; charakteryzuje się złym rokowaniem;
- rak sitowaty (*cribriform comedo-type adenocarcinoma*) charakteryzują duże sitowate struktury gruczolowe z centralną martwicą. Zwykle są to raki wykazujące stabilność mikrosatelitarną (MSS) lub hipermetylację wysp CpG;
- rak neuroendokryny drobno- lub wielkokomórkowy – wymaga potwierdzenia rozpoznania badaniami immunohistochemicznymi na synaptofizynę i chromograninę oraz oceny aktywności proliferacyjnej Ki67 z przeciwciałem MIB1. Indeks proliferacyjny Ki67 powyżej 20% potwierdza rozpoznanie NEC.

W tabeli III przedstawiono kryteria oceny stopnia histologicznej dojrzałości raka jelita grubego wg klasyfikacji WHO z 2010 r.

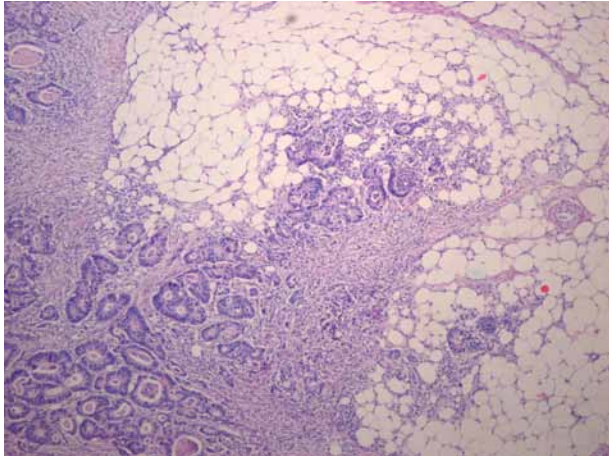
Tradycyjnie rak gruczolowy jelita grubego dzielony jest na cztery stopnie, w zależności od zdolności tworzenia struktur gruczolowych. Rak niezróżnicowany (stopień 4., G4) jest zarezerwowany wyłącznie dla raków nietworzących struktur gruczolowych, produkujących śluz lub raków neuroendokrynnego, płaskonabłonkowego lub wrzecionowatokomórkowego.

Alternatywny podział raka jelita grubego na dwa stopnie złośliwości, niski i wysoki, charakteryzuje się lepszą powtarzalnością w ocenie. Podkreślenia wymaga, że raki gruczolowe i niezróżnicowane z wysoką niestabilnością mikrosatelitarną (MSI-H) wykazują niski stopień złośliwości. Do dodatkowych cech mikroskopowych wskazujących na bardziej agresywny przebieg raka należą nisko dojrzałe grupy lub pojedyncze komórki raka w inwazyjnym marginesie guza zwane pączkowaniem (*tumor budding*). Barwienie immunohistochemiczne na keratynę przydatne jest do identyfikacji tych mikroskopowych ognisk raka.

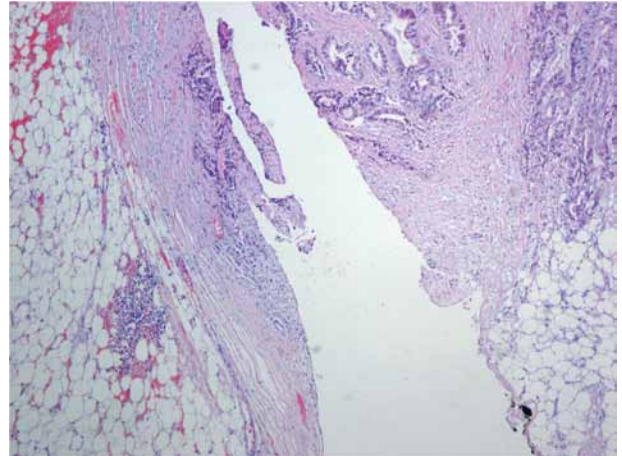
4.2. Stopień patomorfologicznego zaawansowania pTNM

Aktualnie obowiązującą klasyfikację pTNM 7 *American Joint Committee (AJCC)/Union for International Cancer Control (UICC)* stopnia zaawansowania raka jelita grubego przedstawiono w tabeli IV. W porównaniu z wcześniejszymi edycjami, TNM 5 i TNM 6 AJCC/UICC, największe różnice dotyczą interpretacji cechy pN. Trudności w interpretacji dotyczą definicji węzła chłonnego z przerzutem raka, różnicowania naciekania węzła przez komórki raka oraz rozpoznawania depozytów komórkowych. Według TNM 5 o rozpoznaniu węzła chłonnego z przerzutem decydowała wielkość zmiany – guzek w tkance tłuszczowej okołojelitowej średnicy powyżej 3 mm, wypełniony całkowicie naciekiem raka traktowano jako przerzut do węzła chłonnego, natomiast guzek średnicy poniżej 3 mm jako naciek raka i kwalifikowano go jako cechę pT. Według wytycznych TNM 6 o rozpoznaniu depozytu komórkowego weryfikowanego jako cecha pT lub zatoru z komórek raka w świetle naczynia decydował nieregularny kształt guzka, natomiast w przypadku regularnego kształtu przypominającego węzeł chłonny – rozpoznawano węzeł wypełniony przerzutem.

Natomiast według TNM 7 depozyty komórkowe oceniane są w przypadkach bez obecności przerzutów do węzłów chłonnych jako cecha pN1c. Gdy stwierdza się przerzuty do węzłów chłonnych, wtedy traktowane są jako cecha mikroskopowa i nie mają wpływu na oce-



Rycina 2. Stopień pT3 – płytkie naciekanie tkanki tłuszczowej okołojelitowej przez raka jelita grubego



Rycina 3. Stopień pT4a – naciekanie powierzchni trzewnej przez raka jelita grubego

nę cechy pT ani pN. W raku odbytnicy po radiochemioterapii przedoperacyjnej nie powinny być oceniane.

Depozytami komórkowymi (*tumor deposits, discontinuous extramural extension* – TD) określa się agregaty, nacieki raka gruczołowego w tkankach przesusowcówkowych, krezki lub tkankach okołokrężniczych i okołoodbytnicznych. Powstają one w wyniku szerzącego się nacieku bez kontynuacji z guza pierwotnego, inwazji naczyń żylnych, chłonnych i krwionośnych z przechodzeniem poza ścianę lub całkowitego wypełnienia węzła chłonnego naciekami raka. Do mikroskopowych cech depozytów komórkowych należą: nieregularny ich kształt, brak utkania węzła chłonnego, brak na ich obwodzie włókien kolagenowych tworzących włóknistą torebkę. Z kolei węzły chłonne wypełnione przerzutami cechuje: okrągły kształt przerzutów (depozytów) raka z obecnością zachowanego utkania węzła chłonnego i cienka torebka włóknista na obwodzie. Ryciny 4. i 5. przedstawiają obraz mikroskopowy depozytów komórkowych w tkance tłuszczowej okołojelitowej oraz węzeł chłonny z przerzutami raka gruczołowego z zachowaną torebką i resztkowym utkaniem chłonnym.

Drugi problem dotyczący interpretacji cechy pN odnosi się do liczby zbadanych węzłów chłonnych. Według rekomendacji TNM AJCC/UICC minimalna liczba węzłów chłonnych znalezionych w tkankach okołojelitowych powinna wynosić 12. Według opracowań pochodzących z różnych ośrodków liczba ta waha się od 6 do 17. Zwraca się również uwagę na redukcję liczby węzłów chłonnych z przerzutami o 24% po terapii przedoperacyjnej i o 48% po radiochemioterapii przedoperacyjnej w raku odbytnicy. Na podstawie danych z piśmiennictwa wynikających z dużych badań klinicznych stwierdzono, że jedynie w 20% przypadków po terapii neoadiuwantowej w raku odbytnicy znajdowanych było 12 węzłów chłonnych. Tak więc problem minimalnej liczby węzłów chłonnych w materiale pooperacyjnym raka odbytnicy i okrężnicy pozostaje nadal w dyskusji. Ponieważ jednak liczba węzłów chłonnych z przerzutami

raka jest istotnym czynnikiem rokowniczym decydującym o leczeniu uzupełniającym, badanie to powinno być przeprowadzone w sposób dokładny i należy go poddawać kontroli jakości.

4.3. Marginesy chirurgiczne

Tradycyjnie oceniane są marginesy proksymalny i dystalny. Ponadto w odcinkach okrężnicy i dolnej części odbytnicy niepokrytych surowicówką należy podać w milimetrach odległość najgłębszego nacieku raka od obwodowej linii cięcia chirurgicznego określaną terminem „margines radialny” lub „margines obwodowy” [*circumferential (radial) margin*]. Niedostateczny, pozytywny margines radialny wynosi 0–1 mm. Zagadnienie to szczegółowo omówiono w poprzednim rozdziale.

4.4. Inwazja naczyń krwionośnych i chłonnych oraz nerwów

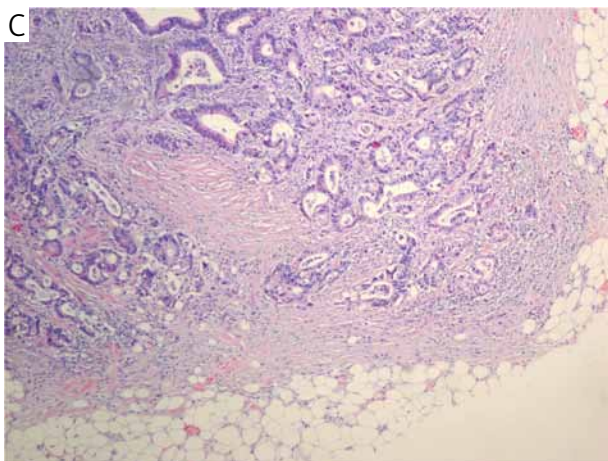
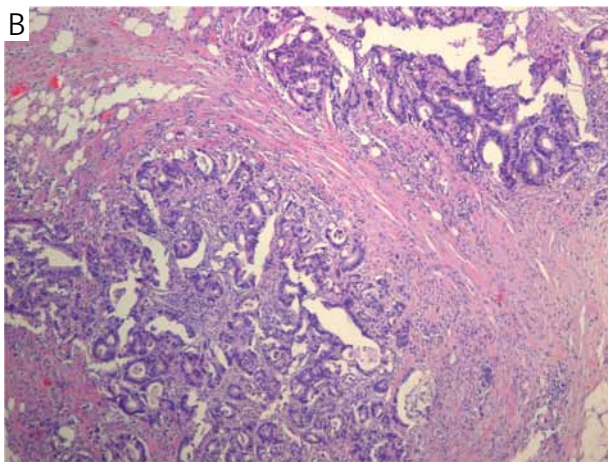
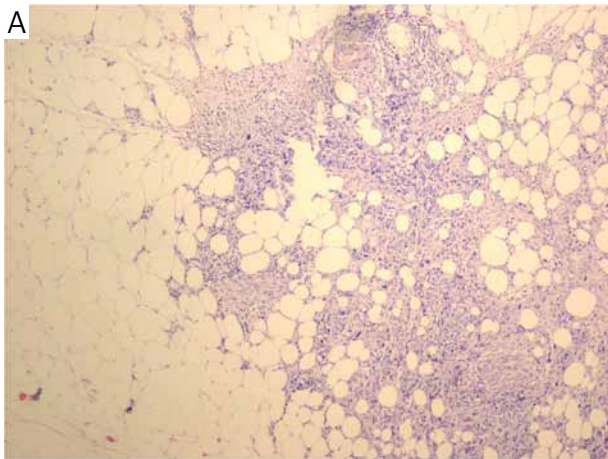
Inwazja naczyń chłonnych (LI), żylnych (VI) przez komórki raka to cecha mikroskopowa o dyskusyjnej wartości prognostycznej.

Inwazja naczyń żylnych poza mięśniówką właściwą (*extramural vein*) jest niezależnym czynnikiem prognostycznym wiążącym się z przerzutami do wątroby. Natomiast inwazja naczyń żylnych w ścianie jelita grubego (*intramural vein*) jest słabo zbadana, nie ma jednoznacznych danych na ten temat.

Niejednoznaczna jest wartość rokownicza naciekania naczyń chłonnych i nerwów. Odróżnienie naczyń chłonnych od drobnych postkapilarnych naczyń żylnych jest trudne, dlatego należy podawać w wyniku inwazję małych, cienkich naczyń.

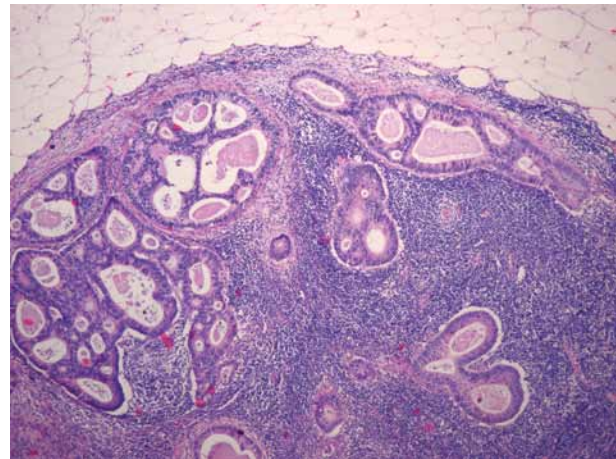
4.5. Ocena stopnia regresji raka odbytnicy po radio- lub chemioterapii przedoperacyjnej, margines obwodowy

Radio- lub chemioterapia przedoperacyjna zmniejsza ryzyko wystąpienia wznowy raka odbytnicy, zmniejsza stopień zaawansowania nowotworu (*do-*



Rycina 4. Stopień pN1c. A–C) Depozyty komórkowe w tkance tłuszczowej okołojelitowej bez obecności przerzutów w węzłach chłonnych. Brak struktury węzła chłonnego, utkania chłonnego i torebki węzła

wnstaging) oraz może wydłużyć przeżycie chorych. Istotną cechą mikroskopową o wartości prognostycznej jest margines obwodowy (radialny; *circumferential margin* – CM) w preparacie operacyjnym. W odpowiedzi na przebyte leczenie przedoperacyjne w tkankach nowotworu występują jakościowe zmiany zwyrodnieniowe, na podstawie których można ocenić stopień regresji guza po leczeniu.

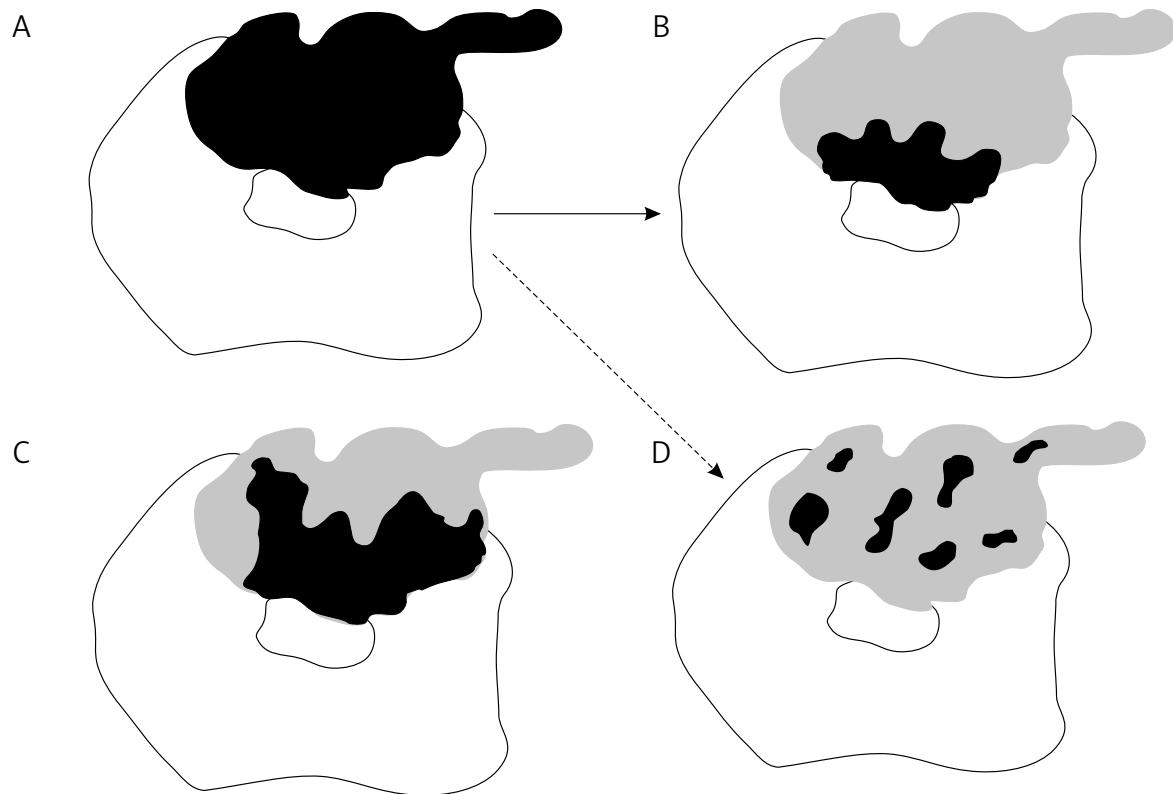


Rycina 5. Przerzut raka jelita grubego do węzła chłonnego. Obecne utkanie chłonne węzła oraz jego torebka

Badaniem mikroskopowym stwierdza się następujące zmiany morfologiczne w architekturze tkanki nowotworowej:

Stopień zwyrodnienia raka odbytnicy dużego stopnia cechuje się zaburzeniem układów histoformatywnych charakterystycznych dla raka gruczołowego. Stwierdza się obecność różnej wielkości litych gniazd raka lub struktur cewkowych rozproszonych chaotycznie w dominującym nad nimi podścielisku. Komórki raka mają zatarte granice i mogą tworzyć zespólnie. W gęstej i kwasochłonnej cytoplazmie występują wakuole śluzu. Jądra komórek mają nieregularny, często monstrialny kształt i ziarnistą chromatinę. W wyniku terapii przedoperacyjnej komórki raka ulegają apoptozie lub martwicy. Fragmenty zwyrodniałych komórek otoczone błoną cytoplazmatyczną tworzą ciała apoptotyczne leżące luźno w podścielisku lub w debris komórkowym w świetle zachowanych lub resztkowych struktur gruczołowych. W zwłókniałym podścielisku stwierdza się rozproszone nacieki zapalne. Obecne mogą być także bezkomórkowe jeziora śluzu widoczne w różnych warstwach ściany jelita. Brak komórek raka w preparacie operacyjnym bez lub z obecnością jezior śluzu oceniany jest jako całkowita odpowiedź raka na leczenie (*complete response* – CR), która odpowiada stopniu pT0.

W zwyrodnieniu raka odbytnicy małego lub średniego stopnia zwykle stwierdza się zachowany układ histoformatywny tkanki nowotworowej. Komórki raka mogą mieć zatartą granicę, kwasochłonną cytoplazmę, wakuole śluzu w cytoplazmie. Jądro komórkowe przeważnie jest regularne lub nieco powiększone, pęcherzykowe okrągłe lub owalne z jąderkiem. Komórki raka z małymi zmianami zwyrodnieniowymi mają zachowane wyraźne granice i niepowiększone jądro. W podścielisku nowotworu można stwierdzić obecność martwicy, zwapnień oraz różnokomórkowe nacieki zapalne. Zmiany zwyrodnieniowe małego i średniego stopnia odpowiadają



Rycina 6. Dwa typy regresji raka odbytnicy w odpowiedzi na leczenie przedoperacyjne w stosunku do marginesu obwodowego. Schemat A obrazuje naciek raka odbytnicy przekraczający margines obwodowy. Schematy B, C i D odpowiadają zmianom w rozległości nacieku raka odbytnicy po terapii neoadiuwantowej. Schemat B prezentuje obraz równomiernego zmniejszania się masy guza i brak nacieku raka w marginesie obwodowym. Schemat C odpowiada podobnemu sposobowi regresji guza, ale z pozytywnym marginesem obwodowym. Schemat D przedstawia fragmentację tkanki nowotworowej po leczeniu neoadiuwantowym z pozostałością nacieków raka we włóknistym podścielisku

Źródło: Gosens MJ, Klaassen RA, Tan-Go I, Rutten HJ, Martijn H, van den Brule AJ, Nieuwenhuijzen GA, van Krieken JH, Nagtegaal ID. Circumferential margin involvement is the crucial prognostic factor after multimodality treatment in patients with locally advanced rectal carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13 (22 Pt 1): 6617-6623. Rycinę zamieszczono za zgodą wydawcy – AACR. Translations of any AACR materials into languages other than English are intended solely as a convenience to the non-English-reading public. Translation accuracy is neither guaranteed nor implied. If any questions arise related to the accuracy of the information contained in the translation, please refer to the English version of the AACR journal that is the Version of Record (VoR).

częściowej odpowiedzi nowotworu na leczenie (*partial response* – PR).

Regresja tkanki nowotworowej po radio- lub chemioterapii przedoperacyjnej może wystąpić w sposób jednolity albo przez jej fragmentację. Na rycinie 6. przedstawiono schematy odpowiedzi raka odbytnicy po terapii neoadiuwantowej w stosunku do marginesu obwodowego.

W celu obiektywizacji oceny odpowiedzi terapeutycznej raka odbytnicy na leczenie neoadiuwantowe przyjęto stosowanie trzystopniowej klasyfikacji z modyfikacją Ryan i wsp. (tab. V).

Ocenę stopnia regresji guza przeprowadza się na podstawie stanu nowotworu pierwotnego, a nie stanu węzłów chłonnych. Ponadto należy zwrócić uwagę, że bezkomórkowe jeziora śluzu odpowiadają całkowitej regresji nowotworu po leczeniu i nie są kwalifikowane stopniem ypT (ryc. 7.).

5. Wysokospecjalistyczne badania dodatkowe w raku jelita grubego

5.1. Ocena niestabilności mikrosatelitarnej oraz zaburzeń molekularnych genów *BRAF*, *KRAS* i *NRAS*

Do wysokospecjalistycznych badań w raku jelita grubego zalicza się ocenę niestabilności mikrosatelitarnej metodami immunohistochemicznymi i molekularnymi oraz zaburzeń molekularnych genów *BRAF*, *KRAS* i *NRAS*. Mają one wartość prognostyczną i predykcyjną w odniesieniu do chemioterapii i terapii celowanej molekularnie.

Drogą niestabilności mikrosatelitarnej (*microsatellite instability* – *MSI, pathway*) rozwija się 15% raków sporadycznych oraz dziedziczny rak jelita grubego bez polipowatości (*hereditary nonpolyposis colorectal cancer* – *HNPCC*) w postaci zespołu Lyncha, stanowiący 2–3% raków jelita grubego. Zespół ten związany jest z inaktywacją systemu naprawy błędów replika-

Tabela V. Klasyfikacja stopnia regresji raka odbytnicy po leczeniu neoadiuwantowym wg modyfikacji Ryan i wsp. (raport *College of American Pathologists*)

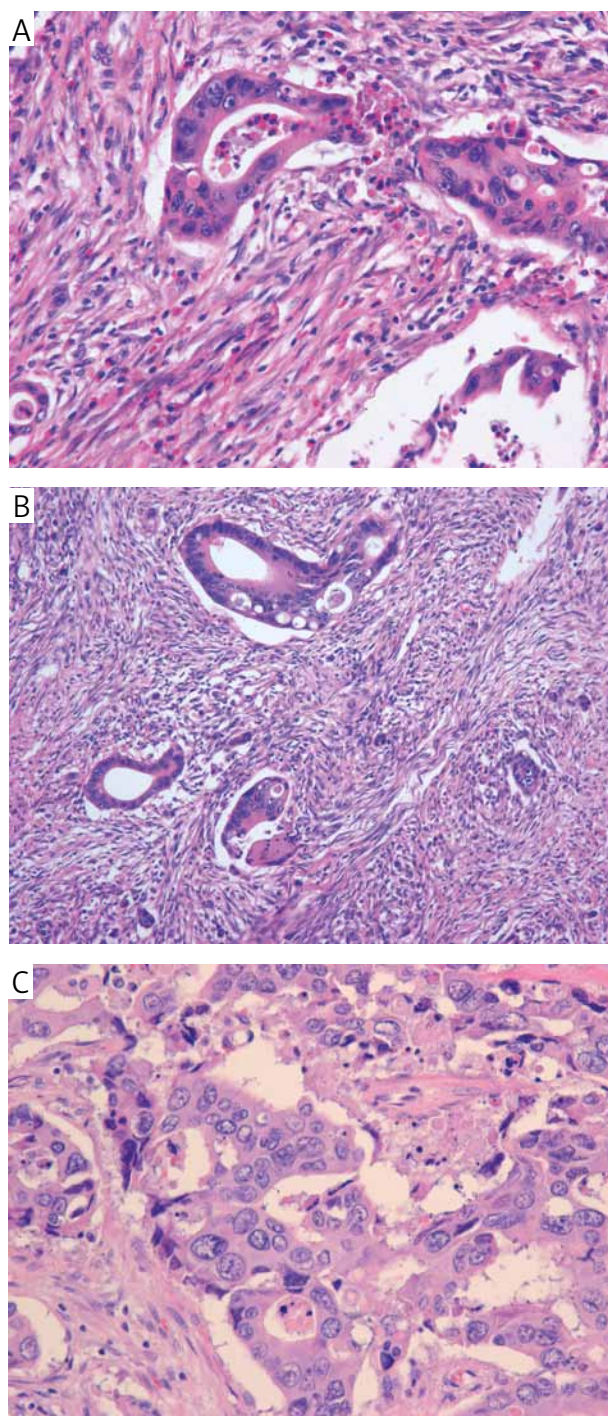
KOMENTARZ	STOPIEŃ REGRESJI NOWOTWORU (TUMOR REGRESSION GRADE)
brak żywych komórek raka	0 – <i>complete response</i>
pojedyncze komórki lub małe ich grupy	1 – <i>moderate response</i>
nacieki raka obecne we włóknistym podścielisku	2 – <i>minimal response</i>
minimalna odpowiedź, komórki raka żywe, brak cech regresji guza	3 – <i>poor response</i>

cyjnych DNA wynikających z germinalnych mutacji w genach mutatorowych, najczęściej *MSH2*, *MLH1*, *MSH6* lub *PMS2*. Charakteryzuje się on mnogimi synchronicznymi i metachronicznymi rakami jelita grubego, jak również występowaniem nowotworów endometrium (15–70% kobiet z zespołem Lyncha), jajników (3–14% kobiet z zespołem Lyncha), pozajelitowych lokalizacji w przewodzie pokarmowym i układzie moczowym. W rakach sporadycznych niestabilność mikrosatelitarna jest wynikiem zaburzeń epigenetycznych związanych z metylacją promotora genu *MLH1*. Ocena stanu niestabilności mikrosatelitarnej opiera się na analizie mononukleotydów i dwunukleotydów BAT25, BAT26, D5S346, D2S123, D17S250, określanymi jako panel Bethesda. Wysoką niestabilność mikrosatelitarną (MSI-H) stwierdza się w przypadkach zaburzenia wielkości co najmniej 2 z 5 markerów mikrosatelitarnych (40%).

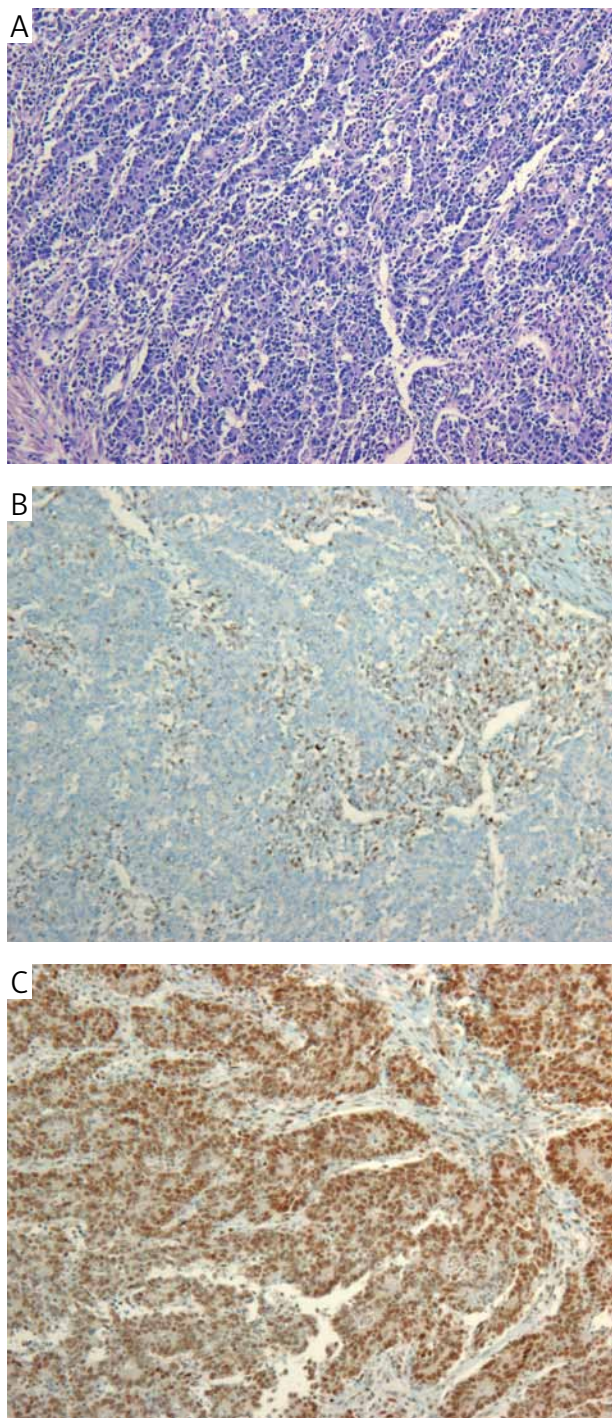
Rozpoznanie raka jelita grubego z MSI-H niesie ze sobą ważne implikacje kliniczne, identyfikuje osoby i ich rodziny z wysokim ryzykiem rozwoju zespołu Lyncha (HNPCC) lub z rakiem sporadycznym MSI-H. Opiera się ono na klinicznych cechach wywiadu rodzowego. W tabeli VI przedstawiono aktualne kryteria Bethesda stanowiące podstawę do wykrycia raka jelita grubego z niestabilnością mikrosatelitarną.

Poza danymi klinicznymi ważną rolę w ustaleniu rozpoznania raka MSI-H odgrywa umiejętność interpretacji obrazu histopatologicznego nowotworu w materiale operacyjnym. Przydatna jest ona zarówno w przypadkach uwarunkowanych dziedzicznie (zespół Lyncha), jak i w raku sporadycznym. Kryteria mikroskopowe rozpoznania raka jelita grubego z MSI-H przedstawiono w tabeli VII.

Wśród wymienionych wyżej mikroskopowych cech raka z MSI-H zwraca uwagę interpretacja obrazu histopatologicznego nacieków limfocytarnych wokół tkanek guza. Są one charakterystyczne dla niestabilności mikrosatelitarnej i układu histoforamytnego raka rdzeniastego. Należy je odróżniać i dodatkowo ocenić obok reakcji limfocytarnej typu jak w chorobie Leśniowskiego-Crohna. Kryteria mikroskopowe wskazują na pewne różnice między zespołem Lyncha a rakiem sporadycznym z MSI-H. Poza cechami molekularnymi, wymieniane są wiek i płeć, jako parametry



Rycina 7. A–C) Zmiany w komórkach raka jelita grubego po terapii przedoperacyjnej



Rycina 8. Rak rdzeniasty kątncy z MSI u 76-letniej kobiety. **A)** hematoksylina i eozyna; **B)** utrata ekspresji MLH1, reakcja immunohistochemiczna; **C)** brak utraty ekspresji MLH2, reakcja immunohistochemiczna

różniące oba typy raka. Uwagę zwraca, iż raki powstające w wyniku zaburzeń epigenetycznych (sporadyczne z MSI) rozwijają się u osób starszych, po 70. roku życia, częściej u kobiet niż u mężczyzn. Cechy kliniczne, mikroskopowe oraz zaburzenia genetyczne i epigenetyczne w zespole Lyncha i raku sporadycznym jelita grubego z MSI-H przedstawiono tabelach VIII i IX.–4

Tabela VI. Kliniczne kryteria rozpoznania raka jelita grubego z MSI wg standardu Bethesda

KRYTERIA ROZPOZNANIA RAKA JELITA GRUBEGO Z MSI WG WYTYCZNYCH BETHESDA

- wiek chorych poniżej 50. roku życia
- obecność mnogich synchronicznych lub metachronicznych nowotworów macicy, żołądka, jajnika, trzustki, moczowodu, miedniczki nerkowej, dróg żółciowych, jelita cienkiego, guzów mózgu, nowotworów gruczołów łojowych i rogowiaka kolczysto-komórkowego (zespół Muir-Torre)
- rak jelita grubego z wymienionymi wyżej cechami histopatologicznymi poniżej 60. roku życia
- rak jelita grubego rozpoznany u jednej lub więcej osób w pierwszym stopniu pokrewieństwa z guzem odpowiadającym HNPCC, jeden z raków rozpoznany przed 50. rokiem życia
- rak jelita grubego rozpoznany u dwóch lub więcej osób w pierwszym lub drugim stopniu pokrewieństwa z zespołem Lyncha, niezależnie od wieku

Tabela VII. Kryteria mikroskopowe rozpoznania raka jelita grubego z MSI-H

Cechy histopatologiczne raka jelita grubego z MSI-H

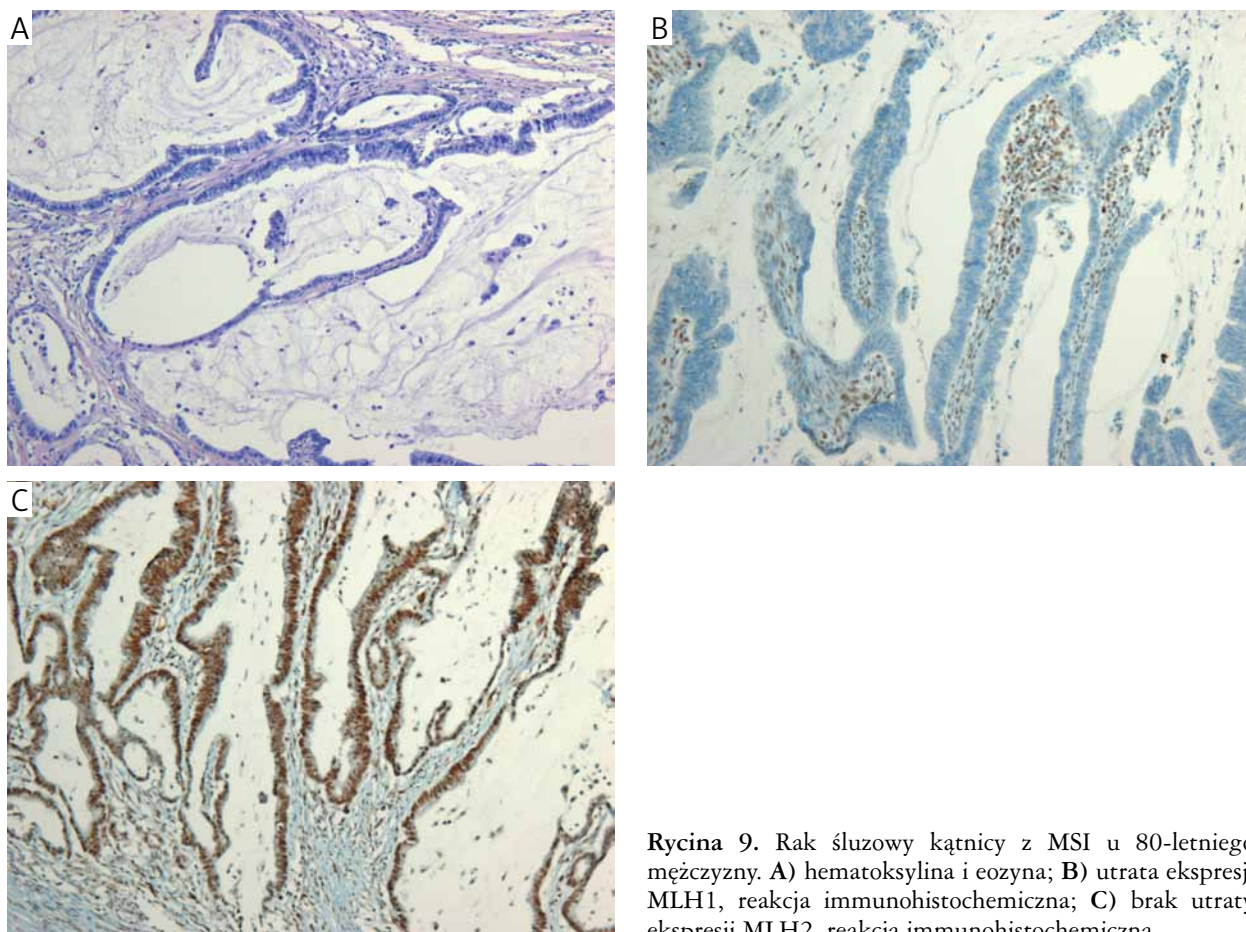
- lokalizacja prawostronna guza
- nacieki limfocytarne w tkance guza (*tumor-infiltrating lymphocytes* – TIL)
- w podścielisku wzrost nacieków z komórek plazmatycznych
- nacieki limfocytarne wokół guza typu choroby Leśniowskiego-Crohna (*Crohn-like response*)
- podtypy raka i stopień dojrzałości:
 - wysoko dojrzały: śluzowy,
 - nisko dojrzały: rdzeniasty, niskozróżnicowany

5.2. Immunohistochemiczne i molekularne metody potwierdzające rozpoznanie raka jelita grubego z MSI-H

W tabeli X przedstawiono propozycję algorytmu z użyciem metod immunohistochemicznych i molekularnych w celu potwierdzenia lub wykluczenia rozpoznania raka jelita grubego z MSI-H z wrodzonym zespołem Lyncha lub rakiem sporadycznym.

5.3. Mutacja V600E genu *BRAF*

Mutacja V600E genu *BRAF* obecna jest w więcej niż 70% nowotworów z hipermetylacją promotora genu *MLH1*. Zbadanie somatycznej mutacji V600E *BRAF* może być markerem sporadycznego raka jelita grubego z MSI-H, ale nie raka rozwijającego się na podłożu zespołu Lyncha. Mutacja *BRAF* w raku jelita grubego wiąże się z ograniczoną odpowiedzią raka na terapię ukierunkowaną na receptor naskórkowego czynnika wzrostu (cetuksimab lub panitumumab).



Rycina 9. Rak śluzowy kątnicy z MSI u 80-letniego mężczyzny. A) hematoksylina i eozyna; B) utrata ekspresji MLH1, reakcja immunohistochemiczna; C) brak utraty ekspresji MLH2, reakcja immunohistochemiczna

Tabela VIII. Cechy kliniczno-patologiczne raka jelita grubego z MSI w zespole Lyncha i raku sporadycznym MSI-H wg Adv Anat Pathol 2009;16: 405-417

CECHY KLINICZNO-MIKROSKOPOWE MSI	ZESPÓŁ LYNCHA	RAK SPORADYCZNY MSI-H
wiek	< 50. roku życia	> 70. roku życia
pleć	kobiety = mężczyźni	kobiety > mężczyźni
lokalizacja guza	prawostronna	prawostronna
HISTOPATOLOGIA – TYP RAKA		
składnik śluzowy	obecny	obecny
<i>signet-ring cell</i>	obecny	obecny
rdzeniasty	obecny	obecny
śródnabłonkowe limfocyty	obecne	obecne
reakcja podobna do reakcji w chorobie Leśniowskiego-Crohna	obecna	obecna
marginies rozprężający	obecny	obecny
niski stopień dojrzałości	tak	tak
<i>budding</i>	obecne	nie
heterogenność guza	tak	tak
prekursor, zmiany ząbkowane	nie	tak

5.4. Mutacja genu *KRAS*

Mutacja genu *KRAS* wiąże się z brakiem klinicznej odpowiedzi na terapię ukierunkowaną molekularnie na *EGFR*. Amerykańskie Towarzystwo Onkologii

Klinicznej (*American Society of Clinical Oncology*) rekomenduje dla pacjentów w IV stopniu klinicznego zaawansowania RJG zbadanie mutacji genu *KRAS* w kodonach 12, 13 lub 61.

Tabela IX. Charakterystyka zaburzeń genetycznych i epigenetycznych w raku jelita grubego z MSI wg Adv Anat Pathol 2009; 16: 405-417

CECHY MOLEKULARNE MSI	ZESPÓŁ LYNCHA	RAK SPORADYCZNY
badania immunohistochemiczne		
brak ekspresji MLH1 i PMS2	tak, część	tak
brak MSH2 i MSH6	tak, część	nie
brak MSH6 i PMS2	tak	nie
CECHY MOLEKULARNE		
MSI-H	tak	tak
<i>BRAF</i> mutacja	bardzo rzadko	tak, 40–60% przypadków
metylacja promotora MLH1	rzadko	tak
mutacje germinalne genów naprawy DNA (MMR)	tak, 90% przypadków	nie

Tabela X. Propozycja algorytmu diagnostycznego raka jelita grubego MSI-H

wywiad rodowy i wykrycie rodzin z ryzykiem rozwoju zespołu Lyncha na podstawie wytycznych Bethesda
identyfikacja raka jelita grubego z MSI-H w materiale operacyjnym na podstawie obrazu histopatologicznego
wykonanie badań immunohistochemicznych określających deficyt produktów białkowych genów naprawczych: podstawowy panel MLH1 i MSH2 (85-procentowe prawdopodobieństwo przewidywania mutacji MMR) oraz uzupełniony MLH1, MSH2, MSH6 i PMS2 (94-procentowe prawdopodobieństwo przewidywania mutacji MMR)
badanie mutacji <i>BRAF</i> , obecność mutacji potwierdza raka sporadycznego MSI-H i wyklucza zespół Lyncha
analiza mutacji u chorych z niedoborem białek systemu naprawy błędów replikacji DNA (MMR) metodą sekwencjonowania

Piśmiennictwo

1. Wojciechowska U, Didkowska J. Nowotwory w Polsce w 2012 roku. Nowotwory 2013; 63: 197-216.
2. Gosens MJ, Klaassen RA, Tan-Go I, et al. Circumferential margin involvement is the crucial prognostic factor after multimodality treatment in patients with locally advanced rectal carcinoma. Clin Cancer Res 2007; 13: 6617-6623.
3. Mawdsley S, Glynne-Jones R, Grainger J, et al. Can histopathologic assessment of circumferential margin after preoperative pelvic chemoradiotherapy for T3-T4 rectal cancer predict for 3-years disease-free survival? Int J Radiation Oncology Biol Phys 2005; 63: 745-752.
4. Nasierowska-Guttmejer A. Znaczenie czynników histopatologicznych i immunohistochemicznych dla oceny odpowiedzi raka odbytnicy na przedoperacyjną radio- i radiochemioterapię. Nowotwory 2001; 51 supl. 3: 33-38.
5. Ryan R, Gibbons D, Hyland JM, et al. Pathological response following long-course neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. Histopathology 2005; 47: 141-146.
6. WHO Classification of Tumours of the Digestive System. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (eds). IARC, Lyon 2010: 134-147.
7. Quirke P, Morris E. Reporting colorectal cancer. Histopathology 2007; 50: 103-112.
8. Resch A, Langner C. Lymph node staging in colorectal cancer: Old controversies and recent advances. World J Gastroenterol 2013; 19: 8515-8526.
9. Mekenkamp LJM, van Krieken JH, Marijnen CAM, et al. Lymph Node Retrieval in Rectal Cancer is Dependent on Many Factors – the Role of the Tumor, the Patient, the Surgeon, the Radiotherapist and the Pathologist. Am J Surg Pathol 2009; 33: 1547-1553.
10. Nagtegaal ID, van Krieken JH. Role of pathologists in quality control of diagnosis and treatment of rectal cancer. Eur J Cancer 2002; 38: 964-972.
11. Nagtegaal ID, van de Velde CJH, van der Worp E, et al. Macroscopic evaluation of rectal cancer resection specimen: clinical significance of the pathologist in quality control. J Clin Oncol 2002; 20: 1729-1734.
12. Quirke P, Riso M, Lambert R, et al. Quality assurance in pathology in colorectal cancer screening and diagnosis – European recommendations. Virchows Arch 2011; 458: 1-19.
13. Quirke P, West NP, Nagtegaal ID. EURECCA consensus conference highlights about colorectal cancer clinical management: the pathologists expert review. Virchows Arch 2014; 464: 129-134.
14. International Union Against Cancer. TNM Classification of Malignant Tumors. Sobin LH, Wittekind C (eds). 5th ed. Wiley-Liss, New York 1997.
15. International Union Against Cancer. TNM Classification of Malignant Tumors. Sobin LH, Wittekind C (eds). 6th ed. John Wiley & Sons, Hoboken 2002.
16. International Union Against Cancer. TNM Classification of Malignant Tumors. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C (eds). 7th ed. Wiley-Blackwell, Oxford 2009.
17. Kikuchi R, Takano M, Takagi K, et al. Management of early invasive colorectal cancer. Risk of recurrence and clinical guidelines. Dis Colon Rectum 1995; 38: 1286-1295.
18. Haggitt RC, Glotzbach RE, Soffer EE, Wruble LD. Prognostic factors in colorectal carcinomas arising in adenomas: implications for lesions removed by endoscopic polypectomy. Gastroenterology 1985; 89: 328-336.
19. Washington MK, Berlin J, Branton P, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with primary carcinoma of the colon and rectum. Arch Pathol Lab Med 2009; 133: 1539-1551.
20. Nasierowska-Guttmejer A. Rak jelita grubego. W: Zalecenia do diagnostyki histopatologicznej nowotworów. Nasierowska-Guttmejer A, Górnicka B (red.). Wyd. Centrum Onkologii, Oddział Gliwice, Gliwice 2013; 99-106.
21. Bellizzi AM, Frankel WL. Colorectal Cancer due to deficiency in DNA mismatch repair function: a review. Adv Anat Pathol 2009; 16: 405-417.