

TECHNIKI SPECJALNE W DIAGNOSTYCE ZMIAN PIERSI

WOJCIECH P. OLSZEWSKI

Ocena immunopatologiczna, głównie immunohistochemiczna (IHC), w diagnostyce zmian piersi ma dwojakie znaczenie:

- stanowi uzupełnienie rutynowej oceny histopatologicznej w diagnostyce różnicowej, pozwalające na sprecyzowanie rozpoznania patomorfologicznego,
- pozwala na określenie czynników predykcyjnych w raku piersi.

1. Immunopatologia jako uzupełnienie rutynowej oceny histopatologicznej

1.1. Immunohistochemia w diagnostyce różnicowej zmian nabłonkowych

Immunohistochemia w diagnostyce różnicowej zmian nabłonkowych jest wykorzystywana w rozwiązywaniu problemów diagnostycznych poprzez:

- wykrywanie komórek mioepitelialnych,
- różnicowanie nienowotworowych zmian proliferacyjnych (np. gruczolistości) z rakiem,
- różnicowanie neoplazji wewnątrz nabłonkowych (raka przewodowego *in situ*, raka zrazikowego *in situ* z rakiem naciekającym),
- różnicowanie rzekomonaciekających zmian (takich jak neoplazja wewnątrz nabłonkowa w gruczolistości stwardniającej lub w bliźnie promienistej),
- różnicowanie brodawczaka z rakiem brodawkowym wewnątrzprzewodowym,
- wykrywanie ognisk mikronaciekania w neoplazjach śród nabłonkowych,
- wykrywanie różnicowania mioepitelialnego w rakach metaplastycznych.

We wszystkich tych sytuacjach, obecność warstwy komórek mioepitelialnych wskazuje na rozrosty łagodne bądź raka *in situ*.

Obecnie istnieją liczne przeciwciała pozwalające na wykrycie komórek mioepitelialnych. Zaliczają się do nich: SMA (aktywna mięśni gładkich), kalponina, MSA (aktywna mięśniowo specyficzna, HHF-35), SMM (miozylna mięśni gładkich), SMMHC, CD10, p63, maspina, CD29, 14-3-3 sigma i NGFR/p75. W Polsce najczęściej stosowana jest aktywna mięśni gładkich (SMA).

Wiele innych przeciwciał stosowanych w immunopatologii zmian piersi wybarwia komórki mioepitelialne, jednak nie w sposób swoisty.

P63 jest uważany za najbardziej specyficzny i swoisty marker komórek mioepitelialnych. Również kalponina i SMMHC cechują się większą swoistością, rzadziej wybarwiają desmoplastyczne miofibroblasty zrębu.

Należy pamiętać, że komórki mioepitelialne mogą występować na obwodzie przewodów z rozrostami typu raka *in situ*.

1.2. Rak mikroinwazyjny

Rak mikroinwazyjny jest definiowany zgodnie z wytycznymi AJCC zawartymi w klasyfikacji TNM jako rak, w którym dominująca część utkania jest nienaciekająca (rak *in situ*), a ogniska naciekania, jedno lub więcej nie przekraczają 0,1 cm. Wytyczne WHO w tym względzie podają inną definicję: jedno ognisko naciekania nie większe niż 0,2 cm lub 2–3 ogniska nieprzekraczające 0,1 cm w maksymalnym wymiarze.

Ocena immunopatologiczna może być bardzo pomocna w wykrywaniu mikronaciekania. Stosowane są tu najczęściej dwa typy przeciwciał:

- przeciwciała przeciw kolagenowi typu IV – brak błony podstawnej lub jej nieciągły charakter w raku naciekającym,
- przeciwciała wykrywające komórki mioepitelialne – brak komórek mioepitelialnych w gniazdach mikronaciekania.

Jeżeli istnieją wątpliwości co do występowania mikronaciekania, przypadek powinien zostać zaklasyfikowany jako nieinwazyjny (rak *in situ*).

1.3. Immunohistochemiczna ocena populacji komórkowych w wewnątrzprzewodowych zmianach proliferacyjnych

Ocena immunopatologiczna pozwala zróżnicować, czy mamy do czynienia z populacją homogeną czy też populacją heterogeną w rozrostach wewnątrzprzewodowych. Tym samym można zróżnicować populację komórek nowotworowych i hiperplastycznych.

Komórki nabłonkowe „luminalne”, charakteryzują się pozytywną reakcją immunopatologiczną na lekkie cytokeratyny (*low molecular weight cytokeratins* – LMW-CK), takie jak CK8, CK18 i CK19. Reakcja na LMW-CK w komórkach mioepitelialnych jest ujemna.

Komórki nabłonkowe w strukturach gruczołowych piersi wykazują dodatnią reakcję na ciężkie cytokeratyny (*high molecular weight cytokeratins* – HMW-CK), takie jak CK1, CK5, CK6, CK10 czy CK14. Komercyjnie występują połączenia różnych HMW-CK, np. CK5/6.

Znaczenie diagnostyczne oceny cytokeratyn w różnicowaniu hiperplazji zwykłej i raka *in situ* wynika z faktu, że w zwykłej hiperplazji występuje dodatnia reakcja, najczęściej mozaikowa, na HMW-CK, z których CK5/6 jest najbardziej specyficzna. W przypadkach DIN (DCIS) reakcja jest w ok. 90% ujemna.

Lekkie cytokeratyny dają dodatnią reakcję IHC zarówno w hiperplazji, jak i neoplazji, i tym samym w aspekcie różnicowania tych typów zmian nie mają praktycznego znaczenia.

1.4. Różnicowanie choroby Pageta z innymi nowotworami w naskórku brodawki piersiowej

Ocena immunopatologiczna komórek nowotworowych w naskórku brodawki piersiowej ma istotne znaczenie kliniczne. Choroba Pageta wymaga różnicowania z trzema typami nowotworów występującymi w tej lokalizacji: czerniakiem złośliwym, rakiem skóry (choroba Bowena), a także z nowotworami łagodnymi brodawki piersiowej, takimi jak brodawczakowatość brodawki (*nipple duct adenoma*). Diagnostykę różnicową tych nowotworów przedstawiono w tabeli I.

1.5. Różnicowanie pomiędzy neoplazjami przewodowymi a neoplazjami zrazikowymi

Atypowa hiperplazja przewodowa i rak przewodowy *in situ* oraz atypowa hiperplazja zrazikowa i rak zrazikowy *in situ* są zmianami o określonych i różnych cechach morfologicznych. Jednak w części przypadków cechy te nie są na tyle wyraźne, aby za pomocą rutynowej oceny mikroskopowej dokonać rozróżnienia tych jednostek. W takich przypadkach można wspomóc rutynową diagnostykę mikroskopową oceną immunopatologiczną. Jest to ważne z punktu widzenia postępowania klinicznego w tych choro-

bach. Schemat interpretacji wyników immunopatologicznych w tego typu rozrostach przedstawiono w tabeli II.

W części przypadków kombinacja profili immunopatologicznych może być nietypowa. W takich sytuacjach możliwe jest określenie zmian mianem wewnątrz nabłonkowej neoplazji gruczołu piersiowego (*mammary intraepithelial neoplasia* – MIN). W przypadku braku reakcji immunopatologicznej na E-kadherynę i ciężkie cytokeratyny stosuje się dodatkowe określenie: negatywna zmiana hybrydowa, a w przypadku obecności reakcji – pozytywna zmiana hybrydowa (tab. II).

1.6. Mikroprzerzuty i izolowane komórki raka w węzłach chłonnych

Klasyfikacja AJCC (TNM) wyróżnia trzy kategorie przerzutów w węzłach chłonnych dołu pachowego:

- przerzuty (makroprzerzuty) – powyżej 2 mm (pN1, 2, 3),
- mikroprzerzuty – 0,2–2 mm (pN1mic),
- izolowane komórki raka – do 0,2 mm (pN0, i+).

Małe ogniska przerzutowe w węzłach chłonnych wymagają niekiedy potwierdzenia swojego charakteru immunopatologicznie. Ma to szczególne znaczenie przy ocenie węzłów chłonnych wartowniczych. W takich sytuacjach stosuje się cytokeratyny (pancytokeratyny). Stosowanie barwienia immunopatologicznego w węzłach chłonnych nie jest obligatoryjne.

Należy podkreślić, że prawidłowe komórki dendrytyczne w węzłach chłonnych często wykazują pozytywną reakcję na cytokeratyny.

Tabela I. Immunopatologiczna diagnostyka różnicowa nowotworów brodawki piersiowej

| BADANY ANTYGEN | TYP NOWOTWORU | | | |
|----------------|----------------|----------------------------|-------------------|----------------------------|
| | CHOROBA PAGETA | RAK PŁASKONABŁONKOWY SKÓRY | CZERNIAK ZŁOŚLIWY | BRODAWCZAKOWATOŚĆ BRODAWKI |
| CK7 | + | – | – | + |
| CK20 | – | + | – | – |
| LMW-CK | + | – | – | + |
| HMW-CK | – | + | – | + |
| HMB 45 | – | – | + | – |
| Melan A | – | – | + | – |
| S100 | – | – | + | – |

Tabela II. Immunopatologiczne różnicowanie rozrostów przewodowych i zrazikowych

| | MARKER IMMUNOHISTOCHEMICZNY | |
|---|-----------------------------|-----------------------------|
| | KADHERYNA E | CK34BE12 (HMW-CK) |
| atypowa hiperplazja przewodowa/rak przewodowy <i>in situ</i> | + | – (w większości przypadków) |
| atypowa hiperplazja zrazikowa/rak zrazikowy <i>in situ</i> | – | + (w większości przypadków) |
| wewnątrz nabłonkowa neoplazja gruczołu piersiowego – negatywna zmiana hybrydowa | – | – |
| wewnątrz nabłonkowa neoplazja gruczołu piersiowego – pozytywna zmiana hybrydowa | + | + |