

Současné možnosti a principy patomorfologické diagnostiky nádorů

C. Povýšil

Ústav patologie 1. lékařské fakulty UK a VFN Praha, přednosta prof. MUDr. Ctibor Povýšil, DrSc.

Souhrn: Moderní patomorfologická diagnostika nádorů zahrnuje komplexní cytologické vyšetření buněk a především biopsické vyšetření vzorků tkání za použití nejmodernějších vyšetřovacích metod. Zásadní význam pro určení charakteru nádorového procesu má nejen jeho histologická typizace a určení biologické povahy, ale zároveň za použití metod imunohistochemické a molekulárně patologické diagnostiky se vyhodnocují prognostické a prediktivní ukazatele. Z prognostických ukazatelů se především stanovuje grading a staging v rámci TNM systému, stav sentinelové lymfatické uzliny, pokud je vyšetřována, a dalších uzlin vyjmutých v této souvislosti. V histologických preparátech se měří hloubka invaze u invazivních karcinomů a melanomu kůže. U endokrinně dependentních nádorů prsu a ženského vnitřního genitálu je zjišťován stav endokrinních estrogenových a progesteronových receptorů. Vlastní prediktivní patologie využívá biomarkerů, které prokazují přítomnost cílových molekul, reagujících s podanými léky, jež mají charakter malých molekul, většinou proteinkináz nebo protilátek. Za pomoci metody FISH je určována amplifikace genu HER2, což predikuje účinnost terapeutických preparátů u karcinomu prsu. U karcinomu tlustého střeva je imunohistochemicky určována přítomnost onkogenu HER1 a dále pak RT-PCR metodou je ověřována přítomnost mutovaného K-ras. U gastrointestinálního stromálního nádoru se stanovuje CD 117 (c-kit) a u maligních lymfomů a leukemií CD20, 33 a 52. Nejobtížnějším úkolem pro patologa je určení primárního východiska nádoru v případech, kdy má k dispozici pouze vzorek z metastázy. I v těchto případech však lze v dnešní době identifikovat linii diferenciacie nádoru a za pomoci panelu protilátek především proti specifickým cytokeratinům a vimentinu včetně použití orgánově specifických markerů pak určit primární zdroj nebo aspoň s vysokou mírou pravděpodobnosti vyslovit podezření na přítomnost nádorového procesu v konkrétním orgánu.

Klíčová slova: patomorfologie – nádory – diagnostika – moderní metody

Current options and principles of pathomorphology-based tumour diagnostics

Summary: Modern pathomorphology tumour diagnostics involve comprehensive cytology cell examination and, importantly, tissue biopsy examination using the most up-to-date assessment techniques. To correctly classify a tumour process, it is essential not only to define its histological typology and identify its biological character but, at the same time, using immunohistochemistry and diagnostic molecular pathology, to evaluate prognostic and predictive indicators. As regards the prognostic indicators, it is mainly grading and staging as part of the TNM system, the sentinel lymph node assessment, if it is assessed, and other nodes extracted in this context. Histological specimens of invasive carcinomas and skin melanomas are assessed with respect to the depth of the invasion. Endocrine oestrogen and progesterone receptors are assessed in endocrine-dependent breast carcinomas. Predictive pathology uses biomarkers; biomarkers confirm the presence of target molecules following their reaction with the administered small molecule-like drugs, usually protein kinases or antibodies. HER2 gene amplification is estimated using the FISH method and predicts effectiveness of breast cancer therapies. In patients with a colon carcinoma, HER1 oncogene is identified immunohistochemically and the presence of a mutated K-ras is subsequently tested using the RT-PCR technique. CD 117 (c-kit) expression is determined in gastrointestinal stromal tumour and CD 20, 33 and 52 in malignant lymphomas and leukaemias. The most difficult task for a pathologist is defining the primary focus of the tumour in cases where only a fraction of a metastasis is available for examination. Nevertheless, at present, it is feasible to track the tumour differentiation down and, using an antibody battery, particularly against specific cytokeratins and vimentine and including organ-specific markers, to identify the primary source or at least to establish an assumption about the most likely organ affected by the tumour process.

Key words: pathomorphology – tumours – diagnostics – modern methods

Úvod

Současná patomorfologická diagnostika hraje jednu z klíčových rolí v diagnostice nádorových onemocnění a její úloha nabývá na významu v souvislosti s rozvojem prognostické a prediktivní medicíny. Určení základních charakteristik nádorového procesu zůstává na patologovi, což má zásadní význam pro další osud pacienta a výběr terapeutických postupů.

Ve svém dnešním sdělení bychom rádi shrnuli současné principy užívané při určování histogeneze a primárního východiska nádorů, stanovení jejich biologické povahy a citlivosti na příslušnou protinádorovou léčbu.

Základní vyšetřovací postupy

Základními vyšetřovacími postupy využívanými v patomorfologické dia-

gnostice nádorů stále zůstává vyšetření cytologické, biopsické a autopsické [1,2]. V případě všech tří postupů je přitom možno využít vysoce specializované metody, jako je histochemie, enzymová histochemie, imunohistochemie, elektronová mikroskopie a molekulární diagnostika s vědomím, že autolytické pochody výraznou měrou nepříznivě ovlivní

používání těchto metod u nekrotických případů.

Cytologické vyšetření

Cytologické vyšetření má vysloveně screeningový charakter a mělo by být ve většině případů se suspektním nálezem doplněno o vyšetření bioptické. Tímto postupem se především vyšetřují nátěry buněk získané stěrem ze slizničních povrchů, tekutiny výpotků a vzorky buněk odebrané tenkojehlovou punkční technikou (fine needle aspiration cytology). V současné době je tento vyšetřovací postup využíván především v diagnostice cervikálních lézí dělohy, při vyšetřování výpotků z preformovaných dutin a tenkojehlových punktátů ze solidních orgánů, jako je štítná žláza, slinivka apod. Omezenost výpovědní hodnoty cytologického vyšetření spočívá v jejím největším nedostatku poskytnout informace o topografických poměrech v místě nádorového onemocnění. Především obvykle nelze spolehlivě odlišit procesy preinvazivní od invazivního karcinomu. Proto byly vyvinuty punkční postupy, při kterých lze získat kompaktní vzorek tkáně (tru cut biopsie), ve kterém je možné zajistit všechna potřebná specializovaná vyšetření a často spolehlivě stanovit charakter nádorového procesu z hlediska jeho invazivní potence.

Bioptické vyšetření

Při bioptickém vyšetření má patolog k dispozici punktát, bioptické vzorky odebrané endoskopickou technikou nebo získané kyretáží patologického ložiska nebo endometria a samozřejmě zcela běžně se vyšetřují probatorní excize z nádorů, lymfatické uzliny anebo celé orgány vyjmuté z důvodů diagnostických či terapeutických. Formou fixovaný materiál se zalévá do parafinu a z takto zhotovených bloků je možné na mikrotomu nakrájet kvalitní histologické řezy pro mikroskopické vyšetření, ve kterých se dnes provádí většina speciálních vyšetření. Samostatnou kapitolu představují **peroperační biopsie**, při kterých jsou využívány zmrazené

řezy, zhotovené na kryokatu. Nádorová tkáň v těchto případech není fixována, nýbrž hluboce zmrazena, a proto kvalitní získávaných histologických řezů je podstatně nižší než při užití parafinové techniky. Tato vyšetření mohou provádět pouze vysoce erudovaní patologové a v některých ústavech či odděleních je často toto vyšetření prováděno dvěma patologi, aby byla na největší míru vyloučena možnost chybné diagnózy. Kliničtí kolegové, čekající na výsledek peroperačního vyšetření u operačního stolu, někdy nechápou, že při tomto rychlém vyšetření nelze mnohdy učinit zcela jednoznačný diagnostický závěr. Výpovědní hodnota těchto vyšetření je totiž omezena právě nízkou kvalitou zhotovených histologických řezů a navíc také tou skutečností, že v krátkém časovém intervalu nelze zajistit specializovaná patomorfologická vyšetření upřesňující diagnostické závěry. Má-li se patolog co nejvíce přiblížit ve svém diagnostickém předběžném závěru ke skutečnosti, je nezbytně nutné, aby průvodní klinické údaje byly dostatečně přesné, neboť na řadě míst lidského těla vznikají nádory velice podobné a bez znalosti lokalizace nelze učinit jednoznačný závěr. Při peroperačním bioptickém vyšetření se také mnohdy hodnotí tzv. okraje resekátu, aby byla jistota, že chirurg operoval ve zdravé tkáni a samozřejmě se vyšetřují i sentinelové uzliny.

Zásadní význam pro určení charakteru nádorového procesu má **histologická typizace nádoru**, která v řadě případů umožňuje zároveň potvrzení nebo určení primárního východiště nádoru spolu s jeho biologickou povahou. Základní metodou pro určení histologické typizace je vyšetření klasických histologických řezů, barvených hematoxylinem-eozinem. Zkušený patolog již v této fázi diagnostického procesu mnohdy spolehlivě určí histologický typ tumoru, čímž je většinou potvrzeno primární východiště nádoru, ze kterého byl odebrán vzorek, nebo při diferenciálně diagnostické rozvaze je možno stanovit stra-

tegií dalšího vyšetřovacího postupu v rámci diagnostického procesu. V současné době existuje několik tisíc typů a podtypů nádorů jednotlivých orgánů a různých tkání, jejichž klasifikace se provádí v souladu s mezinárodními klasifikačními schémata vypracovanými pod záštitou WHO. Jednotlivé typy nádorů, vyskytující se v orgánech či tkáních, se mnohdy zásadně liší, což lze rozpoznat již při tomto základním vyšetření. Jindy je však třeba indikovat další vyšetřovací postupy, které umožní přesnější zařazení vyšetřovaného nádoru. K tomuto účelu slouží různé postupy v rámci imunohistochemického vyšetření, využívajícího monoklonálních protilátek více či méně specifických pro jednotlivé typy nádoru. Tyto postupy, stejně jako v případě germinálních nádorů gonád, lze využít k určení jednotlivých komponent, které jsou součástí smíšených nádorů. Tak je možno např. odlišit klasické adenokarcinomy od nádorů s neuroendokrinní diferenciací v plicích nebo v prostatě. Podobně máme k dispozici protilátku, které umožňují spolehlivě potvrdit histopatologickou diagnózu stanovenou klasickým postupem, že se jedná o lobulární nebo duktální karcinom prsu [2,3]. Vážný diferenciálně diagnostický problém představuje např. Pageťův karcinom prsní bradavky, který lze monoklonálními protilátkami spolehlivě odlišit od intraepidermálně se propagujícího maligního melanomu.

Přesné **určení biologické povahy** nádorového procesu vyžaduje značnou zkušenost vyšetřujícího patologa. Odlišení benigního nádoru od maligní varianty je stále založeno na sledování cytologických znaků malignity, jako je vysoká mitotická aktivita, atypické mitózy, jaderné i buněčné nepravidlosti různého charakteru. Dále pak je nutné sledovat jeho chování k okolním strukturám, především k vazivovému pouzdru nádoru a známky invaze přes bazální membránu u epitelových tumorů. Známky perineurální propagace jsou charakteristické pouze pro některé karcinomy, hlavně prostaty

a adenoidně cystický karcinom slinných žláz. Pokud má patolog k dispozici příslušnou regionální uzlinu, ve které zaznamená metastázu, tak ve většině případů je tento náález jednoznačným signálem maligního charakteru nádorového onemocnění stejně jako angioinvasze. Celkově je nutno říci, že bez správného posouzení uvedených ukazatelů nelze mnohdy spolehlivě odlišit benigní nádorové ložisko od maligního nádorového procesu. Posuzování proliferativní aktivity za pomoci protilátek typu Ki 67 má význam pouze u vybraných nádorových afekcí. V případě zhoubných mezenchymových nádorů typu leiomyosarkomu je hranice mezi benigním a maligním procesem definována na základě mezinárodně určených standardů. Většinou se posuzuje přítomnost nekrotizace a počet mitóz na 10 zorných polí při velkém zvětšení s objektivem 40krát.

Cytologická kritéria pro určení biologické povahy však neplatí stoprocentně u všech nádorových procesů. Jsou známy nádory, které vykazují výrazné cytologické atypie, které však nejsou výrazem vysokého stupně nádorové proliferace. Je tomu tak v případě feochromocytomu dřeně nadledviny nebo u některých leiomyomů dělohy, event. u neuroektodermových nádorů měkkých tkání. V těchto případech výskyt velkých buněk s pleiomorfne uspořádanými jádry není známkou malignity a o nepříznivé biologické povaze lze rozhodnout pouze na základě přítomnosti ostatních ukazatelů zhoubného nádorového procesu. Na druhé straně nádory z hlediska cytologie naprosto dobře diferencované mohou v určitých případech vykazovat známky metastatické potence, kterou nelze predikovat. Takovým příkladem je obrovskobuněčný nádor kostí, který přibližně ve 2 % zakládá metastázy, aniž by bylo možno v primárním ložisku prokázat jakékoliv známky buněčných atypií a zvýšené proliferativní nebo mitotické aktivity.

Samostatnou kapitolu, někdy velice obtížnou, představuje správné **rozlišení invazivního karcinomu od pre-**

neoplastických afekcí, lokalizovaných intraepiteliálně. V současné době je známa řada preinvasivních procesů jako prostatická intraepiteliální neoplazie (PIN), cervikální intraepiteliální neoplazie (CIN), vulvární intraepiteliální neoplazie (VIN) atd. Do této skupiny patří všechny léze žláзовých a povrchových epitelů s dyplastickými změnami epitelových buněk včetně karcinomu in situ. Jejich správné rozpoznání na jedné straně a na druhé straně jejich odlišení od invazivního karcinomu významnou měrou ovlivňuje další terapeutické postupy. V některých případech pomůže k odlišení invazivního karcinomu imunohistochemické znázornění bazálních membrán, nebo v případě karcinomu prostaty nepřítomnost bazálních buněk v nádorových žlázkách. Následný chirurgický výkon je většinou indikován v menším rozsahu u preneoplastických afekcí a u karcinomu in situ, než je tomu u invazivního karcinomu. U karcinomu in situ močového měchýře je za jistých okolností na místě urocystektomie, pokud po dvou cyklech indukční léčby BCG vakcínou nádor přetrvává ve své intraepiteliální podobě. Do jisté míry podobná problematika se týká i neinvazivních lobulárních neoplazií či intraduktálních proliferativních lézí prsu zahrnujících i karcinomy in situ [3]. Ve všech těchto případech je na místě podrobné vyšetření ve více řezech, což samozřejmě je jednou z příčin rozrůstající se extenzity biopsických vyšetření v našem oboru.

Neméně obtížnou situací, kterou musí patolog řešit, je správné rozpoznání **vzniku maligního procesu v některém z prekancerózních stavů**, které nezdávka imitují zhoubný nádorový proces od samého začátku. S takovou situací se setkáváme především u některých kostních afekcí, které vznikají multifokálně, jako je enchondromatóza a osteochondromatóza, anebo se vyvinou v kostech v průběhu let a časem mohou být místem vzniku sarkomu, jak je tomu u Pagetovy choroby kostí a fibrózní dysplazie.

V současné době se samozřejmě nelze spokojit pouze s určením biologické povahy nádoru, nýbrž **patolog vyhodnocuje řadu prognostických znaků i prediktivních ukazatelů**. Z prognostických znaků je třeba zmínit především grading, který se liší podle typu nádorového onemocnění. U epitelových nádorů se většinou vyhodnocuje 3–5 stupňů, přičemž se bere v úvahu stupeň diferenciací žláзовých formací, mitotická aktivita a stupeň nádorových atypií. V případě karcinomu prostaty se kromě 5 stupňů ještě určuje tzv. Gleasonovo skóre, kdy se sčítají stupně malignity (Grades) v oblastech nejlépe diferencovaných s pravidelnými žlázkami s okrsky, které jsou méně diferencované [4]. Jakousi hranicí mezi prognosticky příznivějšími nádory a adenokarcinomy prostaty vysoké malignity je skóre 7. Skóre se potom využívá k určení dalšího terapeutického postupu, samozřejmě v souladu se stagingem nádorového onemocnění. Tři stupně gradingu jsou využívány při vyhodnocování maligního potenciálu i u mezenchymových nádorů měkkých tkání a kostí nebo nádorů neuroektodermového původu v oblasti centrálního nervstva.

Zásadní prognostický význam má určení **stagingu nádorového onemocnění**, jehož vyhodnocování provádějí částečně i patologové podle toho, jaké tkáně byly zaslány k biopsickému vyšetření. Patolog posuzuje jednak hloubku invaze, vyhodnocuje přítomnost či chybění metastáz v lymfatických uzlinách nebo ve vzdálených orgánech. V případě invazivních karcinomů je přesným měřením rozsahu invaze v histologickém preparátu odlišován mikroinvazivní karcinom od ostatních invazivních karcinomů. Základní prognostický význam má měření hloubky invaze podle Breslowa u nodulární formy maligního melanomu, nebo u ostatních malignizovaných melanocytárních lézí. 95 % pacientů s melanem tenčím než 0,75 mm přežívá 5 let.

Dalším významným prognostickým ukazatelem je **stav sentinelové uzliny**

v příslušném regionu. V případě pozitivního nálezu v uzlině, do které se jako první dostává lymfa a případně metastázy, představuje významný signál k radikálnímu postupu ve smyslu provedení lymfadenektomie, což je mnohdy možno rozhodnout na základě výsledku peroperačního vyšetření. Tento přístup je v současné době v podstatě již rutinně využíván při ošetřování maligního melanomu, karcinomu tlustého střeva a karcinomu vnitřního genitálu ženy a prsu. Při histopatologickém vyšetření sentinelové uzliny, které někdy bývají 2, nebo dokonce 3, se při negativním nálezu nelze spokojit s jediným histologickým řezem, nýbrž takové uzliny je nutno vyšetřovat polosériově ve více řezech v přesně definovaném odstupu. Navíc, metastázy jsou verifikovány za pomoci imunohistochemických metod k průkazu cytokeratinů nebo melanomových markerů. V současné době zůstává zatím nevyjasněná otázka, jak postupovat v případech, kdy metastáza nepřevyšuje svou velikostí 0,2 mm v průměru. Ve většině případů za takovýchto okolností se lymfadenektomie neindikuje. Biopstické vyhodnocení nálezů v sentinelové uzlině představuje pro patologa závažný úkol s významnými dopady pro pacienta, především proto, že lymfatická drenáž příslušné oblasti bývá po vyjmutí většiny uzlin omezena, což může být spojeno s rozvojem otoku. Pokud je nález v sentinelové uzlině pozitivní, je třeba vyjmout všechny lymfatické uzliny v dané oblasti, které je nejprve nutné makroskopicky identifikovat v preparátu fixovaném formolem. Makroskopická identifikace takovýchto uzlin, mnohdy milimetrových rozměrů, je obtížná, a proto preparát s lymfatickými uzlinami musí být projasněn za použití speciálních roztoků, které do jisté míry natráví tukovou tkáň a zvýrazní obrysy přítomných lymfatických uzlin. Počítání zachycených lymfatických uzlin a jejich vyšetření představuje významnou zátěž každé biopstické laboratoře, neboť u jednoho pacienta jich bývá až 50–100.

Prognostická patologie poskytuje podklady pro určení pravděpodobnosti recidivy a metastatické potence nádoru. Prediktivní patologie napomáhá při určování individuálně účinné cílené léčby, která by pro pacienta byla zároveň co nejméně toxická. Patolog se tedy v dnešní době nemůže spokojit s pouhou histologickou typizací nádoru, ale podle zadání onkologů vyšetřuje a určuje řadu dalších ukazatelů, které jsou nezbytné při určování dalšího cíleně a individuálně zaměřeného terapeutického postupu. Za tímto účelem je u endokrinně dependentních nádorů určován status estrogenových a progesteronových receptorů v případě karcinomu prsu nebo vnitřního genitálu ženy. Určení těchto charakteristik nádorového procesu pak umožňuje zavedení příslušné endokrinní nebo protiendokrinní terapie.

Vlastní prediktivní patologie využívá biomarkerů, které prokazují přítomnost cílových molekul, reagujících s podanými léky. Léky využívané k těmto účelům mají charakter inhibitorů malých molekul, většinou proteinkináz (imatinib a gefitinid) nebo protilátek, jako je transtuzumab nebo cetuximab. Jedná se přitom o to, aby byla prokázána aktivita cíleně vybraných terčů, jako je HER1, HER2 u karcinomu prsu [3] a tlustého střeva [5], CD 117 u gastrointestinálního stromálního nádoru, CD 20, 33 a 52 u maligních lymfomů. Stručně řečeno, v dnešní patologii se mnohdy již nelze spokojit pouze s výsledkem běžného histologického vyšetření a s typizací nádoru. Nádory stejné histologické struktury se totiž mnohdy do značné míry liší svými biologickými vlastnostmi, včetně metastatického potenciálu v závislosti na imunofenotypu, stavu endokrinních receptorů a na expresi onkogenů.

V případě karcinomu prsu identifikujeme za pomoci metody FISH nebo SISH amplifikaci genu HER2, což predikuje špatnou prognózu a rezistenci nádoru na tamoxifen, ale zároveň účinnost preparátů typu transtuzumabu. Metoda FISH je přitom indiko-

vána pouze v případech, kdy vyšetření Hercept testu bylo 2+ nebo 3+. Pozitivní jsou případy s nálezem 6 kopií genu HER2 na jedno buněčné jádro, nebo musí být poměr kopií tohoto genu ke kopiím chromozomu 17 alespoň 2,2. U karcinomu tlustého střeva je stanovována přítomnost mutací genu K-ras a v pozitivních případech nemá význam podávání monoklonální protilátky proti EGFR. Léčba je účinná pouze u nádorů s divokým statutem KRAS. U gastrointestinálního stromálního nádoru pozitivita c-Kit (CD 117) předpovídá účinnost léčby imatinibem (Gleevec), což je molekulární inhibitor tyrozinkinázy. Podobnými směry se ubírá rozvoj biologické léčby u karcinomu plic, leukemií a maligních lymfomů.

Řada dalších molekulárních prognostických a prediktivních faktorů, jako je chromozomální instabilita, tumor supresorický gen T53, určování genového profilu nádorů, denzita imunitních buněk v okolí nádoru a jiné se zatím běžně ve větším měřítku nevyhodnocuje. Hlavním důvodem je ta skutečnost, že jejich výpovědní hodnota zatím nebyla v dostatečné míře ověřena, a proto se názory na jejich význam se různí.

Patolog se nachází před nejtěžším úkolem v případech, kdy obdrží vzorek **nádoru neznámého primárního východiska**, což jsou ve většině případů metastázy. Situace je o to komplikovanější, že většinou se jedná o drobné vzorky, odebrané punkční technikou, ve kterých není možno se orientovat, o případném vztahu nádorového procesu k okolním strukturám. Nádory tohoto charakteru tvoří 5–20% všech nádorových onemocnění, vyšetřovaných na odděleních a ústavech patologie. Odhalení primárního ložiska má samozřejmě z hlediska terapeutického i s ohledem na osud pacienta zásadní význam. Je při tom nutno odlišit regionální metastázu od vzdálených metastáz, neboť lokalizovaná onemocnění v dané oblasti jsou samozřejmě pro léčbu mnohem dostupnější. Ve

většině případů se jedná o metastázy charakteru karcinomu, i když je nutné počítat i s metastázami nádorů jiné histogeneze, ať už se jedná o neuroektodermové tumory, germinální nádory gonád, nebo mezenchymové nádory, jako je osteosarkom či chondrosarkom metastazující do plic apod. Nález metastáz v lymfatických uzlinách samozřejmě znamená, že je nutno v první řadě počítat s výskytem primárního nádoru v daném regionu. Podobné pravidlo platí i při výsevu nádorových ložisek v pohrudniční či v peritoneální dutině nebo v kostech.

Při **vyšetřování nádoru neznámé primární lokalizace** je na prvním místě třeba se pokusit identifikovat linii diferenciace. V současné době máme k dispozici řadu imunohistochemických markerů [6], které nám většinou pomohou rozpoznat, zda se jedná o málo diferencovaný karcinom exprimující cytokeratiny, maligní melanom exprimující HMB45 a melan A, některý z maligních lymfomů, exprimujících specifické markery, nebo zda jde o mezenchymové nádory charakteru sarkomů.

V případě metastázy málo diferencovaných karcinomů se lze pokusit za využití unikátních podtypů cytokeratinů blíže určit skupinu nádorů, které přicházejí v úvahu jako primární zdroj metastázy. Klíčovou roli v současné situaci hraje vyšetření k průkazu cytokeratinu 7 a 20. Cytokeratin 7 při negativním cytokeratinu 20 exprimuje především karcinom plic, zatímco cytokeratin 20 při negativním cytokeratinu 7 exprimují karcinomy tlustého střeva. Dalším stupněm je pátrání po koexpresi vimentinu a cytokeratinu, neboť tento imunofenotyp je typický pouze pro karcinomy ledvin, endometria, serózní karcinom ovaria, karcinomy slinných žláz, folikulární karcinom štítné žlázy a některé sarkomatooidní karcinomy. Samozřejmě, že současnou expresi cytokeratinu a vimentinu lze identifikovat i u nádorů mezotelového původu. V současné době však máme některé specifické markery mezoteliálních nádorů, takže

odlišení od karcinózy peritonea nebo pleury je ve většině případů možné. Dalším směrem, který je nutno ozřejmit v případě metastatického rozsevu, je pátrání po expresi neuroendokrinních markerů, v současné době reprezentovaných chromograninem a synaptofyzinem. Jejich pozitivita ukazuje, že se jedná buď o benigní neuroendokrinní nádor charakteru karcinoidu, nebo o neuroendokrinní karcinom. Karcinomy se známky neuroendokrinní diferenciace, především v plících a v prostatě, mají velmi špatnou prognózu a obvykle při potvrzení této diagnózy není indikováno chirurgické odstranění nádorového ložiska, neboť většinou v téže době bývají již přítomny metastázy v lymfatických uzlinách. Následuje tedy pouze chemoterapie a ozařování. Nádory neuroektodermového původu většinou exprimují některé z markerů neuroektodermového zaměření, jako je S-100 protein, leu 7, CD56 atd. Identifikace metastáz melanomu v současné době již nespočívá na průkazu melaninového pigmentu, jak tomu bylo dříve, ale na pozitivitě markerů, jako je HMB 45 a melanu A. Melan A je produkt genu MART 1. Oba tyto markery umožňují spolehlivou identifikaci metastáz melanomu, a to i v případě amelanotického melanomu.

Další orgánově specifické markery umožňují v některých případech alespoň vyslovit vysokou míru podezření na přítomnost nádoru v konkrétním orgánu [6]. TTF 1 indikuje přítomnost metastázy papilárního karcinomu štítné žlázy nebo karcinomu plic. K odlišení těchto dvou možností přispívá vyšetření k průkazu tyreoglobulinu, který je samozřejmě produkován pouze nádory štítné žlázy. Prostatický specifický antigen prakticky ve 100 % potvrdí přítomnost metastázy karcinomu prostaty. Protlátka BRST ukazuje na pravděpodobnou přítomnost primárního ložiska v prsu, HEPAR 1 na primární hepatocelulární karcinom, pozitivita Ca 125 v nádorových buňkách ukazuje na možnou přítomnost nádoru v oblasti vnitřního genitálu, i když se jedná

o poměrně málo specifický marker. Většina germinálních nádorů [7] bývá pozitivní v reakci k průkazu placentární alkalické fosfatázy. Nádor ze žloutkového vaku vykazuje produkci α -feto-proteinu a buňky choriokarcinomu samozřejmě obsahují choriogonadotropin, který je rovněž snadno prokazatelný. V současné době je k dispozici řada protilátek proti jednotlivým typům hormonů známých z endokrinologie, takže při bioptickém vyšetřování nesidiomu není problém určit charakter produkovaného hormonu, jako je glukagon, inzulin, gastrin nebo jiných látek, včetně serotoninu atd.

Velice rozsáhlou skupinu představují nádory vycházející z mezenchymových tkání [8]. Zde je nutné počítat s mnoha proliferativními procesy, imitujícími zhoubné nádory. Obzvláště rozsáhlá je skupina myofibroblastických afekcí, mezi něž patří např. nodulární fasciitida, různé formy fibromatóz atd. Imunohistochemické vyšetření dnes dovoluje ve většině případů přesné určení histogeneze nádorového procesu. V současné době máme k dispozici markery nádorů z hladké svaloviny (aktiny), příčně pruhované svaloviny charakteru rhabdomyosarkomu (Myo D1, myogenin atd.), angiogenních nádorů (CD 31, 34, faktor VIII), solitárního fibrózního nádoru a dermatofibrosarkomu (CD 34, CD 99), neuroektodermových nádorů typu Ewingova sarkomu (CD 99, FLI 1 a chromozomální translokace). Na druhé straně je však řada nádorů, kde je diagnostika založena na zkušenosti a umu vyšetřujícího patologa. Např. u nádorů z tukové tkáně nebo nádorů ze skupiny fibrózního histiocytomu dosud neexistuje žádný specifický marker. Pro chondrogenní nádory je typická pozitivita S-100 proteinu, avšak specifická je relativně nízká. Málo specifické jsou i markery, které by bylo možno použít u osteoplastických nádorů, tj. osteosarkomu. Souhrnně lze říci, že všechny současné dostupné metody jsou nejméně použitelné v případě diagnostiky nádorů kostí. Velkou

roli zde hraje úzká klinicko-patologická spolupráce včetně znalosti RTG nálezu, neboť pro jednotlivé oblasti skeletu je často charakteristický výskyt jen určitých typů kostních nádorů, ať už benigního charakteru, nebo kostních sarkomů.

Při patomorfologickém vyšetření nádorů jsou mnohdy rovněž vyhodnocovány **výsledky protinádorové terapie**. To se týká těch situací, kdy zhoubný nádor diagnostikovaný probatorní excizí nebo jiným předterapeutickým vyšetřením je léčen chemoterapií, event. ozařován a teprve po určité době je orgán nebo příslušná část kostí vyjmuta. Poléčebné změny nenádorové tkáně přitom mohou po takovém terapeutickém zásahu vykazovat určité atypie, připomínající nádorový proces, což je třeba spolehlivě odlišit. Změny tohoto rázu lze pozorovat hlavně ve fibroblastech kolagenního vaziva a endoteliích. Pozitivní léčebné účinky se většinou projeví nekrózou vlastní nádorové tkáně a jizvením. V těchto případech je nutné pátrat po přežívajících, to znamená vitálních buňkách, které mohou být jednotlivě rozptýleny mezi zmnoženými buňkami kolagenního vaziva, což ztěžuje jejich identifikaci. Situaci usnadňuje použití specifických imunohistochemických markerů, jako jsou např. cytokeratiny, které spolehlivě odliší epitelovou a mezenchymovou komponentu, nacházející se v dané oblasti. V poslední době se zájem soustřeďuje i na porovnávání imunofenotypu, event. genotypu nádorových buněk primárního ložiska a buněk přežívajících v léčené oblasti. V některých případech, konkrétně u osteosarkomu kostí, je třeba kvantitativně vyhodnotit množství vitálních buněk v nádorovém ložisku. V případě, že toto množství vitálních buněk je větší nežli

10%, je nutno zajistit změnu podávaných chemoterapeutik. Takovéto vyšetření, ověřující účinnost léčby, vyžaduje zpracování celého nádorového ložiska a histopatologické vyšetření za pomoci histomorfometrických metod. Samostatnou problematiku představuje určování zbytkové nádorové nemoci molekulárními diagnostickými metodami.

V patologii podobně jako v celé dnešní medicíně je praktikován princip diagnostiky založené na důkazech (evidence based pathology), což v první řadě platí o diagnostice nádorů. Pouhá zkušenost, byť všeobecně uznávaná autority v oboru, na rozdíl od dřívějších dob již sama o sobě nestačí. Proměnlivost nádorových afekcí jednoho histologického typu je tak obrovská, že je bezpodmínečně nutné každý zásadní onkologický diagnostický závěr, pokud je to možné, ověřit příslušnými speciálními metodami [1–8] a samozřejmě doplnit o vyšetření ratingu nádoru zahrnujícího všechny prakticky významné prognostické a prediktivní ukazatele. Proto nejen jeden nádorový proces je konzultován na pracovištích patologie vyššího typu, neboť pracovištím okresního typu nejsou všechna specializovaná vyšetření z personálních i finančních důvodů dostupná. V našem oboru je již řadu let praktikován systém tzv. druhého čtení, kdy je možno komplikované nálezy nechat ověřit a v případě indikace specializovaných vyšetření i doplnit na pracovištích krajského typu nebo u specialistů univerzitních ústavů. O takovouto konzultaci může požádat vyšetřující patolog, ošetřující klinický lékař nebo i sám pacient. Je však třeba si uvědomit, že ani takovýto postup nemusí přinést jednoznačný diagnostický závěr, neboť ani renomovaní specialisté pro nádory příslušné oblasti se nemusí

vždy shodnout ve svém diagnostickém závěru, a to i přes současný vysoký stupeň diagnostických možností. To nedokazuje nic jiného, než že patomorfologická diagnostika nádorů má stále řadu oblastí, které čekají na rozvoj nových a účinnějších diagnostických postupů a specializovaných metod především v imunohistochemii a molekulární diagnostice. Celkově lze tedy shrnout, že patomorfologická diagnostika nádorů, má-li být prováděna na vysoké odborné úrovni, vyžaduje kvalitní specializované pathology se zkušenostmi v oblasti bioptické diagnostiky nádorů, kteří mají zázemí moderně vybaveného pracoviště se specializovanými laboratořemi. Toto by mělo být zájmem nejen jednotlivých zdravotnických zařízení, ale i celého našeho zdravotnictví.

Literatura

1. Povýšil C, Šteiner I et al. Speciální patologie. Praha: Galén a Karolinum 2007.
2. Rosai J. Surgical Pathology. Edinburgh: Mosby 2004.
3. Tavassoli F, Devilee P. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital Organs. WHO classification of tumours. Lyon: IARC Press 2003: 9–112.
4. Dvořáček J, Babjuk M et al. Onkourologie. Praha: Galén a Karolinum 2005.
5. van Krieken JH, Jung A, Kirchner T et al. KRAS mutation testing for predicting response to anti-EGFR therapy for colorectal carcinoma: proposal for an European duality assurance program. Virchows Arch 2009; 454: 233–235.
6. Dabbs D. Diagnostic immunohistochemistry. Churchill Livingstone: Elsevier 2006.
7. Abrahámová J, Povýšil C, Dušek L et al. Nádory varlat. Praha: Grada 2008.
8. Miettinen M. Diagnostic soft tissue pathology. Churchill Livingstone: Elsevier 2003.

prof. MUDr. Ctibor Povýšil, DrSc.
www.lf1.cuni.cz
e-mail: ctibor.povyasil@lf1.cuni.cz

Doručeno do redakce: 17. 5. 2010