

# Histološka diagnostika raka dojk

Dr. Barbara Gazić, dr. med.

Onkološki inštitut Ljubljana, Oddelek za patologijo

---

## Izvleček

Diagnozo raka dojk postavi patolog na osnovi mikroskopskega pregleda vzorca tkiva. Ne-invazivni rak ali karcinom *in situ* je z bazalno membrano omejen na lobularno enoto ali duktus in ne zaseva. Invazivni rak se preko bazalne membrane širi v stromo, lahko pa se razširi po limfnih žilah v bezgavke ali po krvnih žilah v oddaljene organe. Zadnja klasifikacija tumorjev dojk WHO deli invazivne rake na invazivni karcinom brez drugih specifičnih lastnosti, ki ga v praksi še vedno imenujemo invazivni duktalni karcinom (80 % vseh karcinomov dojk), in dvajset specialnih tipov, med katerimi je najpogostejši invazivni lobularni karcinom (10–15 % vseh karcinomov dojk). Pri načrtovanju zdravljenja raka dojk se odločamo na podlagi klasičnih napovednih dejavnikov, ki jih s histološkim pregledom tkiva določa oz. meri patolog in jih poda v standardiziranem histološkem izvidu. Poleg histološkega tipa patolog določi histološki gradus, velikost tumorja, prizadetost pazdušnih bezgavk, prisotnost invazije v limfne in/ali krvne žile, status estrogenskih in progesteronskih receptorjev, proliferacijski indeks in status HER2. Na podlagi velikosti tumorja in prizadetosti pazdušnih bezgavk ter ustreznih preiskav za zamejitev bolezni določimo patološki stadij TNM, ki je pomemben za odločitev o načinu zdravljenja posamezne bolnice in omogoča, da v kliničnih študijah med seboj primerjamo podobne skupine bolnic z rakom dojk.

## Histološka klasifikacija tumorjev dojk

Maligne tumorje dojk v grobem razdelimo v dve glavni skupini: karcinome in sarkome.

Karcinomi oz. ‚raki‘ so maligni tumorji, ki vzniknejo iz epitelijske komponente tkiva dojk. Epitelijsko komponento tvorijo celice, ki obdajajo lobule in duktuse žleznega parenhima. Karcinomi predstavljajo daleč največjo skupino izmed vseh malignih tumorjev dojk. Sarkomi so redki maligni tumorji dojk, ki vzniknejo iz stromalne komponente (vezivnega tkiva) parenhima dojk. Stromalno

komponento tvorijo miofibroblasti, maščevje, živci in krvne žile. Sarkomi predstavljajo manj kot 1 % primarnih malignih tumorjev dojk. Posebna oblika so mejno maligni in maligni filodni tumorji, ki so fibroepitelijski tumorji z mejno maligno ali maligno mezenhimsko in benigno epitelijsko komponento. Rak dojk je ime za heterogeno skupino tumorjev, ki se med seboj razlikujejo po morfologiji, imunohistokemičnih in molekularnih lastnostih, klinični sliki, odzivu na zdravljenje in prognozi. Razlikovati moramo neinvazivni in invazivni rak dojk.

Neinvazivni rak ali karcinom in situ je ‚predinvazivni‘ karcinom, ki je omejen z intaktno bazalno membrano. Tumorske celice proliferirajo znotraj predeksistentnih lobulov oz. duktusov. Karcinom in situ ni pravi rak, ker ne prebija bazalne membrane in zato ne zaseva. Glede na mesto vznika in tip tumorskih celic razlikujemo duktalni karcinom in situ (DCIS) in lobularni karcinom in situ (LCIS). Tudi karcinom in situ je heterogena bolezen, ki se loči po morfologiji, molekularnih lastnostih, stopnji malignosti, odzivu na hormonsko zdravljenje in verjetnosti za prehod v invazivni karcinom. Prav zaradi visoke verjetnosti prehoda v invazivno obliko moramo karcinom in situ zdraviti. Ker pa neinvazivni karcinomi ne zasevajo, jih zdravimo kirurško in z obsevanjem. Invazivni rak se širi zunaj lobulov in duktusov preko bazalne membrane in infiltrira stromo v okolici, lahko pa se razširi po limfnih žilah v bezgavke ali po krvnih žilah v oddaljene organe. Zadnja klasifikacija tumorjev dojk WHO deli invazivne rake na invazivni karcinom brez drugih specifičnih lastnosti, ki ga v praksi še vedno imenujemo invazivni duktalni karcinom (80 % vseh karcinomov dojk), in dvajset specialnih tipov, med katerimi je najpogostejši invazivni lobularni karcinom (10–15 % vseh karcinomov dojk). Invazivni duktalni karcinom in invazivni lobularni karcinom se po svoji morfologiji v večini primerov precej razlikujeta. Lobularni karcinom raste običajno izrazito disociativno in multifokalno, od duktalnega karcinoma pa se razlikuje tudi po svojih imunohistokemičnih in molekularnih lastnostih. Drugi specialni tipi, kot so mucinozni karcinom, tubularni karcinom, karcinom z medularnimi značilnostmi in metaplastični karcinom, imajo značilno histološko sliko in prognozo, različno pa je tudi njihovo zdravljenje.

## **Rak dojk pri moških in otrocih/adolescentih**

Rak dojk se lahko pojavi tudi pri moških in otrocih. Delež raka dojk pri moških je manj kot 1 % vseh karcinomov dojk, rak pa je lahko invaziven ali in situ. Histološka slika raka dojk pri moških je identična histološki sliki raka pri žen-

skah, večinoma je invazivni duktalni karcinom. Vendar pa večino tumorskih sprememb v dojki pri moškem povzroča ginekomastija in ne rak. Ginekomastija se lahko pojavi v eni (unilateralna) ali obeh dojkah (bilateralna).

Tumorji dojk pri otrocih/adolescentih so redki. Lahko so benigni, kot na primer juvenilni fibroadenom, ali pa maligni, najpogostejši je sekretorni karcinom. Pri otrocih moramo zato vedno pomisliti tudi na možnost sekundarnega tumorja, kot sta limfom ali rabdomyosarkom. Zasevki v dojki so pri otrocih precej pogostejši od primarnih tumorjev.

## **Histološka diagnostika raka dojk**

Zdravljenje raka dojk je multidisciplinarni izziv in naloga patologa je, da na podlagi histološke slike postavi pravilno diagnozo. Za opredelitev sprememb v dojki patolog dobi v preiskavo debeloigelnno biopsijo (stebričast vzorec spremembe v dojki) ali ekscizijo (kirurško odstranjen manjši del dojke s spremembo). Za debeloigelnno biopsijo so primerne spremembe v bolj povrhnjih delih dojke, ki jih lahko dosežemo z iglo. Na podlagi tkivnega vzorca igelne biopsije patolog opredeli spremembe oz. določi tip tumorja, spremembe pa na osnovi klasifikacije ,B' uvrsti tudi v ustrezno kategorijo ,B'. Klasifikacija ,B' vključuje kategorije od 1 do 5 in deli lezije v dojki na benigne (B1 ali B2), na lezije nejasnega malignega potenciala (B3), lezije, ki so sumljive za karcinom (B4), in maligne lezije (B5). Predoperativna diagnostika s pomočjo debele igle omogoča tudi načrtovanje sistemskega zdravljenja karcinoma dojk še pred kirurškim posegom in lahko vpliva na izid kirurškega posega. Kadar so spremembe zelo globoko v dojki, blizu stene prsnega koša, jih pogosto ne moremo doseči z debelo iglo. Takrat je kirurški izrez edini način, s katerim lahko dobimo ustrezen tkivni vzorec za histološko diagnozo.

## **Napovedni dejavniki raka dojk**

Sodobno zdravljenje številnih malignih tumorjev, ne le raka dojk, temelji na visoko specifičnih terapevtskih protokolih. Zdravljenje je individualno in zahteva zelo natančno opredelitev tumorja. Napovedni dejavniki poteka bolezni bolnic z rakom dojk so tiste lastnosti primarnega tumorja, na podlagi katerih lahko predvidimo naravni potek bolezni brez zdravljenja. Od napovednih dejavnikov, ki napovedujejo potek bolezni (prognostični dejavniki), ločimo napovedne dejavnike, ki so povezani z odgovorom na določeno sistemsko zdravljenje (prediktivni dejavniki).

Klinično uporaben napovedni dejavnik je tista lastnost tumorja, ki jo lahko rutinsko in ponovljivo objektivno določamo oz. merimo in je dokazano povezana z dobrim ali slabim potekom bolezni. Napovedni dejavniki pomagajo pri izbiri ustreznega individualnega zdravljenja in razložijo razlike v učinkovitosti enakega zdravljenja različnih tumorjev.

Pri načrtovanju zdravljenja raka dojk se odločamo na podlagi klasičnih napovednih dejavnikov, ki jih s histološkim pregledom tkiva določa oz. meri patolog in jih poda v standardiziranem histološkem izvidu. Klasični napovedni dejavniki so histološki tip tumorja, stopnja diferenciacije tumorja oz. histološki gradus, velikost tumorja, prizadetost pazdušnih bezgavk ter status hormonskih receptorjev (estrogenskih in progesteronskih) in onkogeno oz. onkoproteina HER2. Standardiziran histološki izvid vsebuje tudi informacijo o proliferacijski aktivnosti tumorja, proliferacijski indeks MIB1, ki pa ni klasični napovedni dejavnik, ker ne poznamo dovolj objektivne metode za njegovo ponovljivo določanje. Na podlagi velikosti tumorja, prizadetosti pazdušnih bezgavk in prisotnosti oddaljenih zasevkov lahko določimo stadij bolezni.

## **Histološki gradus**

S histološkim gradusom opredelimo stopnjo malignosti tumorja. Tumorji ‚nizkega gradusa‘ so bolje diferencirani in v splošnem manj agresivni od tumorjev ‚visokega gradusa‘, ki so slabo diferencirani in imajo agresivnejši potek. Gradus določamo vsem invazivnim karcinomom dojk, tudi na vzorcih debeloigelnih biopsij, kadar je v vzorcu dovolj tumorskega tkiva. Gradus je pomemben napovedni dejavnik, ki močno korelira s preživetjem bolnic z rakom dojk in napoveduje tudi odgovor na sistemsko zdravljenje, zato je ključnega pomena pri načrtovanju zdravljenja.

Poznamo več različnih sistemov ocenjevanja. Eden izmed njih je Elston-Elisova modifikacija določanja stopnje diferenciacije po Scarff-Bloom-Richardsonu (t. i. ‚Nottingham Histologic Score system‘), pri katerem patolog oceni delež žleznih formacij, jedrne značilnosti oz. jedrni ‚pleomorfizem‘ in število mitoz.

Vsako izmed naštetih lastnosti patolog oceni s točkami 1–3, točke sešteje in na podlagi vsote točk uvrsti tumor v eno izmed treh kategorij: gradus 1 (3–5 točk), gradus 2 (6–7 točk) ali gradus 3 (8–9 točk).

## Stadij

### *Tumorski stadij*

Najpogostejši sistem določanja stadija raka dojk je sistem ‚TNM‘ (T – velikost tumorja, N – prizadetost bezgavk, M – prisotnost oddaljenih zasevkov oz. metastaz). S kombinacijo različnih kategorij T, N in M ločimo pet stadijev (stadij 0, I, II, III in IV). Določitev stadija je pomembna za odločitev o načinu zdravljenja posamezne bolnice in omogoča, da v kliničnih študijah med seboj primerjamo podobne skupine bolnic z rakom dojk.

Razlikovati moramo med kliničnim in patološkim stadijem. Klinični stadij določimo na podlagi kliničnega pregleda in slikovnih preiskav. Patološki stadij T in N pa določimo na podlagi makroskopskega in mikroskopskega pregleda kirurškega vzorca izreza ali odstranitve dojk in varovalne bezgavke ali odstranitve pazdušnih bezgavk. Stadij T določimo na podlagi velikosti invazivnega karcinoma. Pri multiplih invazivnih tumorjih upoštevamo velikost največjega tumorja. Večkrat moramo za določitev ustrezne kategorije T korelirati rezultate makroskopske, mikroskopske in slikovne preiskave. Za pravilno določitev kategorije N moramo vzorčiti vse bezgavke na način, ki omogoča identifikacijo vseh zasevkov, večjih od 0,2 cm. Kategorijo M največkrat opredelimo na osnovi radioloških preiskav, posamezne metastaze pa potrdimo tudi s histološko preiskavo.

Vse pomembnejša postaja neoadjuvantna terapija raka dojk, ki za določitev najverjetnejšega stadija TNM pred kirurškim posegom in pred sistemskim zdravljenjem zahteva korelacijo rezultatov kliničnih, slikovnih in histoloških preiskav. Stadij po neoadjuvantni terapiji določamo na tkivnih vzorcih po definitivni kirurgiji (yT, yN). Stadij pred zdravljenjem in po njem je pomemben napovedni dejavnik pri bolnicah z rakom dojk.

### Invazija limfnih in krvnih žil

Invazija limfnih in/ali krvnih žil pomeni prisotnost skupkov tumorskih celic v manjših žilah parenhima dojk zunaj tumorja, največkrat na obodu tumorja. Invazija limfnih in/ali krvnih žil je povezana z večjo verjetnostjo zasevkov v bezgavkah, hkrati pa je tudi samostojen napovedni dejavnik za ponovitev bolezni in zato vpliva na odločitev o zdravljenju. Bolnice z invazijo limfnih/krvnih žil in zasevkov v bezgavkah imajo slabšo napoved poteka bolezni v primerjavi z bolnicami, pri katerih so prisotni zgolj zasevki ali samo invazija limfnih/krvnih žil. Invazije limfnih/krvnih žil ne prištevamo med klasične napovedne dejavnike, ker ni konsenza o tem, kako definirati limfatično-žilno

invazijo, ali je treba razlikovati med invazijo limfnih in krvnih žil in na kakšen način in kako meriti obsežnost invazije.

Prizadetost pazdušnih bezgavk je najpomembnejši samostojni prognostični dejavnik za večino karcinomov dojke. Prisotnost zasevkov v pazdušnih bezgavkah močno korelira z velikostjo tumorja. Preživetje se niža z vsako prizadeto pazdušno bezgavko. Prizadetost pazdušnih bezgavk je hkrati znak večje verjetnosti za razsoj bolezni, kirurška odstranitev bezgavk pa glede na sedanje raziskave nima večjega vpliva na preživetje.

Na preživetje vplivajo zasevki (imenujemo jih tudi makrozasevki), ki so večji od 0,2 cm v najdaljšem premeru. Večino zasevkov lahko identificiramo v bezgavkah, ki jih pravilno vzorčimo tako, da jih narežemo na 2 mm rezine, vklopimo v parafin v pravilnem zaporedju in iz vsakega bloka pregledamo po eno reprezentativno rezino HE. Če makroskopsko nesumljivih bezgavk ne pregledamo ustrezno v celoti, lahko zgrešimo do 40 % zasevkov. Za dokaz mikrozasevkov (večji od 0,2 mm in manjši od 2 mm) in izoliranih tumorskih celic so potrebne dodatne imunohistokemične preiskave, njihova prisotnost v pazdušnih bezgavkah pa bistveno ne vpliva na prognozo.

Tipanje ali katerakoli slikovna preiskava ne morejo z gotovostjo izključiti možnosti zasevka v pazdušnih bezgavkah. Večina bolnic ima ob diagnozi le posamezne bezgavke zajete z manjšimi zasevki. Tumorske celice se iz dojke drenirajo v eno ali dve bezgavki v pazduhi, le izjemoma v bezgavke druge regije. Te bezgavke imenujemo «varovalne» bezgavke in jih kirurg lahko identificira med operacijo s pomočjo ustreznega barvila ali kontrasta in pošlje na histološko preiskavo. Če v varovalni bezgavki ni tumorja, je velika verjetnost, da ga ni niti v drugih pazdušnih bezgavkah. Manj kot 10 % bolnic ima namreč ob negativni varovalni bezgavki zasevke v drugih, nevarovalnih pazdušnih bezgavkah. Intramamarne bezgavke so le redko varovalne bezgavke, seveda pa jih moramo prišteti k pazdušnim bezgavkam pri določanju stadija, če so v njih zasevki. Biopsija varovalne bezgavke je učinkovita metoda za ugotavljanje prizadetosti pazdušnih bezgavk pri bolnicah z rakom dojke. Kirurška odstranitev vseh pazdušnih bezgavk pri bolnicah brez zasevkov v varovalnih bezgavkah oz. z minimalno prizadetostjo varovalnih bezgavk (izolirane tumorske celice ali mikrozasevki) ni potrebna.

## **Estrogenski receptorji, progesteronski receptorji in HER2**

V rutinski obravnavi bolnic z invazivnim rakom dojke imajo trije molekularni označevalci, estrogenski receptorji (ER), progesteronski receptorji (PR) in hu-

mani receptor epidermalnega rastnega faktorja 2 (**Human EGF Receptor 2** oz. HER2) ključno vlogo in jih določamo rutinsko na vseh invazivnih karcinomih. Vsi trije so prognostični in prediktivni dejavniki. Natančno določanje statusa ER, PR in HER2 je ključnega pomena za uspešno zdravljenje bolnic z rakom dojk in naloga oddelka za patologijo je, da zagotavlja pravilne rezultate dodatnih preiskav, s katerimi molekularne označevalce določamo.

ER je jedrni transkripcijski faktor, ki ga aktivira hormon estrogen in nato stimulira rast normalnega epitelijskega dojke. Na enak način spodbuja tudi rast tumorskih celic. ER določamo imunohistokemično. Metoda je enostavna, senzitivna in specifična. Patolog s pomočjo mikroskopskega pregleda oceni delež pozitivnih jeder tumorskih celic. Približno 80 % invazivnih karcinomov dojke izraža ER, delež pa variira od 1 do 100 %. Status ER je močan prediktivni dejavnik odgovora na hormonsko zdravljenje in to je tudi glavni razlog, da ga določamo na vseh invazivnih karcinomih.

Tudi PR določamo imunohistokemično. ER regulirajo izražanje PR. PR aktivira hormon progesteron, PR pa nato stimulirajo tumorsko proliferacijo. PR izraža 60–70 % vseh invazivnih karcinomov dojke, delež pozitivnih jeder pa prav tako, kot pri ER, variira od 1 do 100 %. Obstaja neposredna korelacija med deležem tumorskih celic, ki izražajo hormonske receptorje, in odgovorom na hormonsko zdravljenje.

Gen HER2 na kromosomu 17 kodira receptor za rastni faktor na površini normalnih epitelijskih celic dojke. Gen HER2 je pomnožen (amplificiran) v 15 % invazivnih karcinomov dojke. Posledica amplifikacije gena je višja ekspresija proteina HER2, posledica je več receptorjev za rastni faktor in hitrejša proliferacija tumorskih celic. Status HER2 določamo imunohistokemično in/ali s fluorescentno in situ hibridizacijo (FISH). Za določanje statusa HER2 obstajajo natančne smernice, ki jih morajo oddelki za patologijo upoštevati, da bi zagotovili kar se da natančne rezultate preiskave in uspeh zdravljenja. Povezava med statusom HER2 in izidom bolezni je precej kompleksna. HER2-pozitivni tumorji dobro odgovorijo na zdravljenje s tarčnimi zdravili, ki se vežejo na protein HER2 na površini tumorske celice (npr. trastuzumab). Glavni namen določanja statusa HER2 je iskanje bolnic z invazivnim karcinomom dojke, ki so primerne za zdravljenje s tarčnimi zdravili. HER2-pozitivni tumorji imajo močno pozitivno sklenjeno membransko imunohistokemično reakcijo (IHK 3+) v več kot 30 % celic in/ali HER2-amplifikacijo, ki jo dokažemo s preiskavo FISH. Pozitivni so tudi tumorji, ki imajo srednje močno pozitivno sklenjeno membransko imunohistokemično reakcijo (IHK 2+) in amplifikacijo gena HER2. Tumorji, ki so imunohistokemično negativni ali imajo šibko membran-

sko imunohistokemično reakcijo (0 ali 1+), imajo praviloma normalno število genov HER2 in so HER2-negativni.

Številni dejavniki vplivajo na določanje ER, PR in HER2. Pomemben predanalitični dejavnik je fiksacija. Tumorje moramo fiksirati takoj po odvzemu in zagotoviti ustrezen čas fiksacije, ki ne sme biti prekratek ali predolg. Analitična faza zahteva uporabo validiranih postopkov in izurjeno osebje v laboratoriju, postanalitična faza pa izkušene patologe in standardiziran izvid. Rezultati določanja statusa ER, PR in HER2 so ključni za izbor optimalnega zdravljenja bolnic z invazivnim rakom dojke.

Vsem primarnim invazivnim karcinomom moramo torej rutinsko določiti status ER, PR in HER2. Ker se status pri majhnem deležu bolnic s ponovitvijo bolezni lahko spremeni, moramo status hormonskih receptorjev in HER2 določiti tudi pri ponovitvi tumorja/zasevkov.

## **MIB-1**

Proliferacijski označevalec MIB-1 (tudi Ki-67) je nehistski jedrni protein, ki je prisoten v vseh fazah celičnega cikla, od G<sub>1</sub> do M, v mirujočih celicah (G<sub>0</sub>) pa ni izražen. Dokažemo ga imunohistokemično. Ocenjujemo delež pozitivnih tumorskih celic. Nekatere študije so nedvomno dokazale, da je MIB-1 neodviven napovedni dejavnik slabšega preživetja bolnic z rakom dojke in negativnimi pazdušnimi bezgavkami. Ker je metoda semikvantitativna in subjektivna, saj ni jasnih protokolov za vrednotenje rezultatov, MIB-1 ni splošno sprejet napovedni dejavnik in po priporočilih ameriških patologov ni obvezni del histološkega izvida. Kljub subjektivnosti metode pa ga številni kliniki uporabljajo pri odločitvi o zdravljenju določenih invazivnih karcinomov dojke in ga zato v mnogih evropskih državah, tudi v Sloveniji, določamo rutinsko in rezultat zapišemo v histološki izvid.

## **Literatura**

1. Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH, Van de Vijver MJ, eds. (2012). WHO classification of Tumors of the Breast. IARC Press: Lyon.
2. Edge SB, Byrd DR, eds (2010). AJCC cancer staging manual. 7th edition. Springer: New York.
3. Čufer T. Vpliv lastnosti primarnega raka dojke na kraj in čas razvoja pri bolnicah z rakom dojke stadijev I in II. Doktorsko delo. Ljubljana: Medicinska fakulteta, 1995.



4. Elston CW, Ellis IO. Assessment of histologic grade. In: Elston CW, Ellis IO, eds. Systemic pathology. 3rd ed. The Breast. Churchill Livingstone: Edinburgh.
5. Weiss JR, Moysich KB, Swede H. Epidemiology of male breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 20:26.