

# KAJ LAHKO POVE PATOLOG MEDICINSKIM SESTRAM

*Rastko Golouh*

Čeprav so prvi zapisi o raku znani že iz časov Babilona, Indije, starega Egipta in Grčije, lahko še danes, po tisočih let, na videz enostavno opredelimo maligne tumorje: maligni tumor je razmeroma nekontrolirana proliferacija celic, ki pa so le bolj ali manj podobne celici, iz katere so nastale. Če upoštevamo podatke iz humane medicine in iz živalskih poskusov in ugotovimo, da neoplastični proces ni samo motnja v proliferaciji celic, ampak tudi modifikacija njihove diferenciacije, je rak v resnici tragična burleska normalnega razvoja delov našega telesa. Prav podobnost med tumorskimi celicami in zdravimi tkivi nam po drugi strani omogoči specifično mikroskopsko diagnozo bolezni in napoved njenega razvoja.

Maligen tumor je torej rezultat avtonomne, ireverzibilne proliferacije "nenavadnih" celic, z dodatno agresivno lastnostjo, da vraščajo v okolna tkiva in se širijo z mezgo ali s krvjo v druge dele organizma. Tako nastala subpopulacija celic se na novem mestu zasidra, razmnožuje in na novo vrašča v okolico (zasevkov)

Ker se lahko rak spočne iz skoraj vsake celice našega organizma, poznamo mnogo vrst malignih procesov. Čeprav je bolezen praviloma monoklonska (tumor nastane s **transformacijo ene same celice**), pa je konkreten tumor sestavljen iz morfološke heterogene celične populacije, kar seveda še otežuje natančno mikroskopsko opredelitev bolezni. Že z navadno svetlobno mikroskopsko preiskavo lahko spoznamo več sto vrst rakavih bolezni, od katerih ima vsaka posebej svoje, za bolnika pomembne

---

*Naslov avtorja: prof. dr. Rastko Golouh, Onkološki inštitut, Ljubljana*

biološke značilnosti (hitrost rasti, frekvenca in način metastaziranja, rezistentnost ali občutljivost na različne načine zdravljenja). Temu moramo prišteti še spoznanje, da lahko vznikne karcinom enake mikroskopske zgradbe v različnih organih (papilarni karcinom jajčnika, dojke, ščitnice), da pa je prognoza take, na videz enake bolezni, v različnem okolju vsakič drugačna.

V praksi se rakave bolezni med sabo tako ločijo, da ima skoraj vsak bolnik svojo obliko neoplazme, s posebnim, težko predvidljivim obnašanjem. Prognoza in pravilna izbira zdravljenja (kirurgija, obsevanje, kemoterapija, hormonsko zdravljenje), posamič ali v različnih kombinacijah, sta odvisni od vrste bolezni, mesta primarnega tumorja, razširjenosti procesa po organizmu in drugih značilnostih tumorja, pa tudi od bolnikovih lastnosti.

Za bolnika z na novo odkritim rakom (in za njegovega zdravnika) bo torej prvo logično vprašanje pred začetkom zdravljenja: kakšne vrste je bolezen, kakšne so njene značilnosti in kateri načini zdravljenja bodo najbolj učinkoviti?

Odgovor na prvo vprašanje, ki pa vsebuje obenem tudi delne odgovore na drugi dve, skušamo najti s preiskavami bolnikovega tumorskega tkiva. Z ambulantno izvedeno citološko punkcijo ali z večjim ali manjšim kirurškim posegom dobljen celični ali tkivni vzorec mikroskopsko preiščemo. Tradicionalne metode, ki jih uporabljamo vsakodnevno, ugotavljajo morfološke in barvne značilnosti celičnih sestavin in medceličnine (amiloid, retikulinska, kolagena in elastična vlakna, lipidi, sluzi) tumorskega tkiva, kar je predpogoj za klasifikacijo oziroma za določitev vrste tumorja.

Zaradi iztirjene diferenciacije postane včasih organizacija tumorske celice enostavna. V tumorskih celicah takih anaplastičnih tumorjev ni več značilnih organel in drugih specializiranih citoplazemskih komponent matičnega tkiva, ki bi omogočile patologu klasificirati bolezen. Šele z uporabo bolj natančnih metod (encimska histokemija, elektronska mikroskopija), ki omogočijo odkrivanje kemičnih in submikroskopskih sprememb v tumorskih celicah, lahko spoznamo razlike med navidez enako grajenimi tumorji tudi v primerih, ko

so si celice različnih tumorjev med sabo povsem podobne. Z elektronskim mikroskopom lahko včasih dokažemo redke ohranjene strukture (dezmomi, filamenti, mikrovili), ki omogočijo ločiti med sabo karcinome, sarkome ali maligne limfome, torej bolezni, ki zahtevajo različno zdravljenje.

Razlike med tumorji so v resnici mnogo večje, kot smo lahko pričakovali ob uporabi dosedanjih metod. Raziskovalna radovednost, nove znanstvene discipline in nenehen, tudi ekonomsko podprt razvoj terapevtskih tehnik in novih drog je povzročil v zadnjem času skokovit razvoj diagnostične patologije.

Imunohistokemija in molekularna biologija sta povzročili v patologiji nepričakovano revolucijo, ne samo zaradi izjemnih možnosti diferenciacije in torej natančnejše opredelitve različnih tumorskih procesov, ampak zaradi globokih konceptualnih sprememb. Naše videnje in razumevanje nastanka raka in vzvodov, ki odločajo o dogajanjih v rakavih celicah se širi in zdi se nam, da smo šele na začetku resničnega spoznavanja bioloških procesov, značilnih za rakave bolezni. Doslej priznane dogme nadomeščajo skoraj vsak dan nova provokativna vprašanja, na katera moramo odgovoriti samo delno ali pa sploh ne.

Z imunohistokemijo lahko v celici s pomočjo antiteles določimo molekule, ki so značilne za posamezne vrste celic ali tkiv. Z znanimi markiranimi antitelesi odkrijemo v celici bolnikovega vzorca značilne, sicer nevidne beljakovine ali druge substance. Včasih nam za razločevanje slabo diferenciranega malignoma pomaga že identifikacija enega antigena (keratin je praviloma diagnostičen za tumorje epiteljske geneze), čeprav je to bolj izjema kot pravilo. Ker so posamični antigeni razširjeni mnogo bolj na široko, kot bi si v diagnostičnem delu želeli, uporabimo v analizi neznanega raka celo serijo - baterijo specifičnih antiteles. Natančnost diagnoze je odvisna od vrste celice, iz katere je nastal tumor, in od stopnje njegove diferenciacije. Z imunohistokemičnimi metodami določamo že celo vrsto keratinov in intermediarnih filamentov (vimentin, dezmin, GFAP, nevrofilament), epiteljske membranske antigene (CEA, EMA), histiocitne in limfoidne markerje, prostatične (PAP, PSA) in vaskularne antigene (F 8 antigen, Ulex Europeus), neuroendokrine

markerje (NSE, kromogranin, sinaptofizin), hormone ščitnice, hipofize in gastropankreatičnega sistema (gastrin, VIP, serotonin, glukagon, inzulin), placentarne hormone in steroidne receptorje. Pozitivne ali negativne reakcije na znane markerje nam pomagajo precizirati vrsto tumorskih celic, pomagajo pa tudi pri napovedi razvoja bolezni, neodvisno od drugih mikroskopskih značilnosti ali od razširitve bolezni. Večje število tumorskih celic s hormonskimi receptorji pomeni pri bolnici s karcinomom dojke odvisnost bolezni od hormonskega zdravljanje. Maligni melanom s povečano imunoreaktivnostjo na s-100 protein ima praviloma slabšo prognozo, podobno kot pomeni povečan delež celic karcinoma prostate z virusnim genskim produktom p21 ali s c-erb 2 proteinom pri karcinomu dojke agresivnejši tumor.

Z metodami molekularne biologije v tumorskih celicah ne analiziramo več samo proteinov, ampak lahko določimo zgradbo in količino DNA in RNA, "kreativnih" delov celičnega jedra, ki so odgovorni za zgradbo in lastnosti rakave celice bolnikovega tumorja. Zaradi visoko specifične vezave komplementarnih nukleotidov (adenin s timidinom in gvanin s citozinom) v dvojnih vijačnicah je možen stalen pretok genetskih informacij iz gena v jedru do ribosomov v citoplazmi. Prav ta značilnost nam omogoča, da z znanimi in posebej markiranimi komplementarnimi nukleinskimi kislinami lahko določimo v tumorski celici že dvajset vrst onkogenov. Onkogeni so deli dedne mase, ki vodijo sintezo jedrnih proteinov, odgovornih za ekspresijo genov(c-myc c-myb, c-fos), proteinov, vezanih na celično membrano (c-ras) in sintezo citoplazemskih proteinskih kinaz, ki sodelujejo pri prenosu fosfatnih skupin za tako pomembne snovi, kot so receptorji rastnih faktorjev (c-erb, c-ros in drugi). Danes že poznamo študije, ki kažejo na zvezo med ekspresijo nekaterih onkogenov in agresivnostjo tumorja.

Mnoge tumorske celice tvorijo podobne ali enake peptidne hormone kot zdrave endokrine žleze. Dokaz enega ali več hormonov nam v takem primeru omogoči, da diagnosticiramo tumor in predvidimo njegove lastnosti. Kadar sumimo na tumor take vrste, lahko v tumorski celici določimo imunohistokemično različne hormone, vendar le takrat, kadar so res v celici. Zgodi se, da v času operacije in odvzema tumorskega tkiva v celici ni

hormona zato, ker se je tik pred tem izločil, zaradi zavrte sekrecije, ali razgraditve, in bo zato imunohistokemična reakcija lažno negativna. V takem primeru lahko dokažemo z metodo in situ hibridizacije v tumorskih celicah z navadnim svetlobnim mikroskopom specifično RNA, ki vodi sintezo prav tega hormona, in tako odkrijemo njihovo pomembno, dotlej "zatajevano" značilnost.

V diagnostični patologiji so poseben problem rakave bolezni limfoidnega sistema - maligni limfomi in limfatična levkemija. Oboji so po eni strani mikroskopsko povsem podobni mnogim vnetnim in reaktivnim boleznim bezgavk, na drugi se celo med sabo le malo ločijo, čeprav je pri njih dolžina preživetja izrazito različna in zahtevajo različne načine zdravljenja. V nekaterih primerih niti z uporabo posebnega znanja in cele palete imunohistokemičnih reakcij ne moremo razločiti, ali gre za malignom ali ne, saj nobena od doslej znanih metod ni mogla zaznati diagnostično pomembne značilnosti - ali je pri takem bolniku proliferacija limfoidnih celic monoklonska ali ni. Ker nastaja pri monoklonski proliferaciji v primeru malignega limfoma nesorazmerno mnogo ene ali dveh vrst DNA, lahko s Southern blot analizo to z lahkoto odkrijemo in elegantno dokažemo, da je tumor malignen. S standardno analizo te vrste lahko zaznamo monoklonsko proliferacijo z 1- 5% senzitivnostjo (v našem vzorcu mora biti torej le 1 do 5 % monoklonskih celic), kar je dokaz, da je metoda mnogo občutljivejša kot sta morfologija ali imunologija. Občutljivost je tako visoka, da moramo odstopati od doslej priznanih kriterijev. Odkrivamo monoklonske ali oligoklonske celične proliferacije tudi pri boleznih, za katere smo bili pričrani, da so benigne.

Vprašanje, kakšen je rak, ni več retorično. Nepričakovano eksploziven razvoj bazičnih znanosti je pripomogel, da lahko v bolnikovem tumorju odkrijemo mnoge prognostično pomembne "skrivnosti".