

Uloga patologa u dijagnostici i terapiji pacijenata s karcinomom dojke

The role of the pathologist in diagnosis and therapy of the breast cancer patients

Elvira Mustać^{1*}, Nives Jonjić¹, Koraljka Rajković Molek², Manuela Avirović¹

Sažetak. Histopatološke značajke karcinoma dojke uključuju brojne podatke koji su neophodni za daljnji odabir terapije pacijentica, stoga oni moraju biti jasni, nedvojbeno navedeni i pouzdani. Osim tradicionalnih podataka o invaziji, metastatskom potencijalu i odgovoru na terapiju, sve više informacija o prognostičkim i prediktivnim čimbenicima koji utječu na terapiju pacijentica daju i genetska istraživanja na temelju kojih su tumori prema ekspresiji određenih gena stratificirani u podtipove.

Ključne riječi: karcinom dojke; molekularni tipovi; prognostički i prediktivni čimbenici

Abstract. Histopathological features of breast cancer include numerous details that are essential for the further choice of patient's therapy because it must be clear, unambiguously stated and reliable. In addition to traditional data on invasion, metastasis and response to therapy more information on prognostic and predictive factors that affect the treatment provide patients and genetic research on the basis of which tumors according to the expression of certain genes in the stratified subtypes.

Key words: breast cancer; molecular typing; prognostic and predictive factors

¹Zavod za patologiju i patološku anatomiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

²Zavod za kliničku citologiju, KBC Rijeka, Rijeka

***Dopisni autor:**

Prof. dr. sc. Elvira Mustać, dr. med.
Zavod za patologiju i patološku anatomiju,
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci
Braće Branchetta 20, 51 000 Rijeka
e-mail: elvira.mustac@medri.uniri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

UVOD

Dijagnostika i terapija raka dojke naglo su se razvile proteklih 20-ak godina. Osamdesetih godina prošlog stoljeća došlo je do važnih promjena u terapiji koje su utjecale na dijagnostički postupnik koji provodi patolog s obzirom na to da on vodi ka personaliziranoj terapiji prema postavljenoj dijagnozi. Histološke značajke tumora imaju važnu ulogu u donošenju odluka o terapiji (kirurškoj, hormonskoj i kemoterapiji). Osim toga, genetska istraživanja sve više utječu na odabir terapije koja se temelji na informaciji o prognostičkim, prediktivnim čimbenicima i molekulskim podtipovima raka dojke^{1,2}.

Danas nije moguće odrediti odgovarajuću terapiju pacijentima s rakom dojke samo na osnovi veličine i tipa primarnog tumora te broja zahvaćenih limfnih čvorova. Prema revidiranoj klasifikaciji iz St. Gallena 2013. godine karcinomi dojke dijele se u pet molekulskih podtipova koji su značajni, prognostički i određuju vrstu terapije za pacijente.

TRADICIONALNE PATOHISTOLOŠKE ZNAČAJKE KARCINOMA DOJKE

Patolog je odgovoran za informacije koje pridonose definiranju tumorskog odgovora i rizika što uključuje tradicionalne patohistološke značajke: veličinu, histološki tip i stupanj diferencijacije tumora, broj zahvaćenih čvorova te biološke parametre s posebnim naglaskom na status estrogenskih receptora (ER) i progesteronskih receptora (PR) i ekspresiju gena humanog epidermalnog receptora 2 (HER2/neu gena) (tablica 1). Veličina tumora važan je prognostički čimbenik, naročito u slučajevima s negativnim aksilarnim limfnim čvorovima. Tako karcinom dojke veličine do 10 mm ima izuzetno dobru prognozu³.

Histološki tip tumora određuje se prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije (SZO), a gradus prema Elstonu i Ellisu modificiranom sustavu Blooma i Richardsona⁴.

Ovisno o histološkom tipu prognoza se kreće od izvrsne (10-godišnje preživljenje > 80 %) za po-

Tablica 1. Izvješće patologa s potrebnim podatcima kod invazivnog raka dojke

Vrsta kirurškog zahvata
Promjer tumora
Tip tumora (klasifikacija SZO-a)
Gradus tumora (Elston-Ellis)
Zastupljenost neinvazivne komponente (%)
Status rubova resekcije (udaljenost ruba resekcije od invazivnog raka i neinvazivne komponente u milimetrima)
Prisutnost/odsutnost širenja u limfne žile
Status estrogenskih receptora
Status progesteronskih receptora
Status Ki-67 proliferacijskog markera
HER2 status
Podtip raka dojke temeljem imunofenotipa
Biopsija limfnog čvora čuvara (broj limfnih čvorova; prisutnost/odsutnost metastaza, promjer metastaze u milimetrima)
Disekcija pazušnih limfnih čvorova (broj limfnih čvorova, ukupan broj limfnih čvorova, promjer metastaza; zahvaćenost rubova resekcije, status najudaljenijih limfnih čvorova)



Slika 1. Izoliranje limfnih čvorova iz pazušnog masnog tkiva (a) i određivanje broja i veličine limfnih čvorova (b).

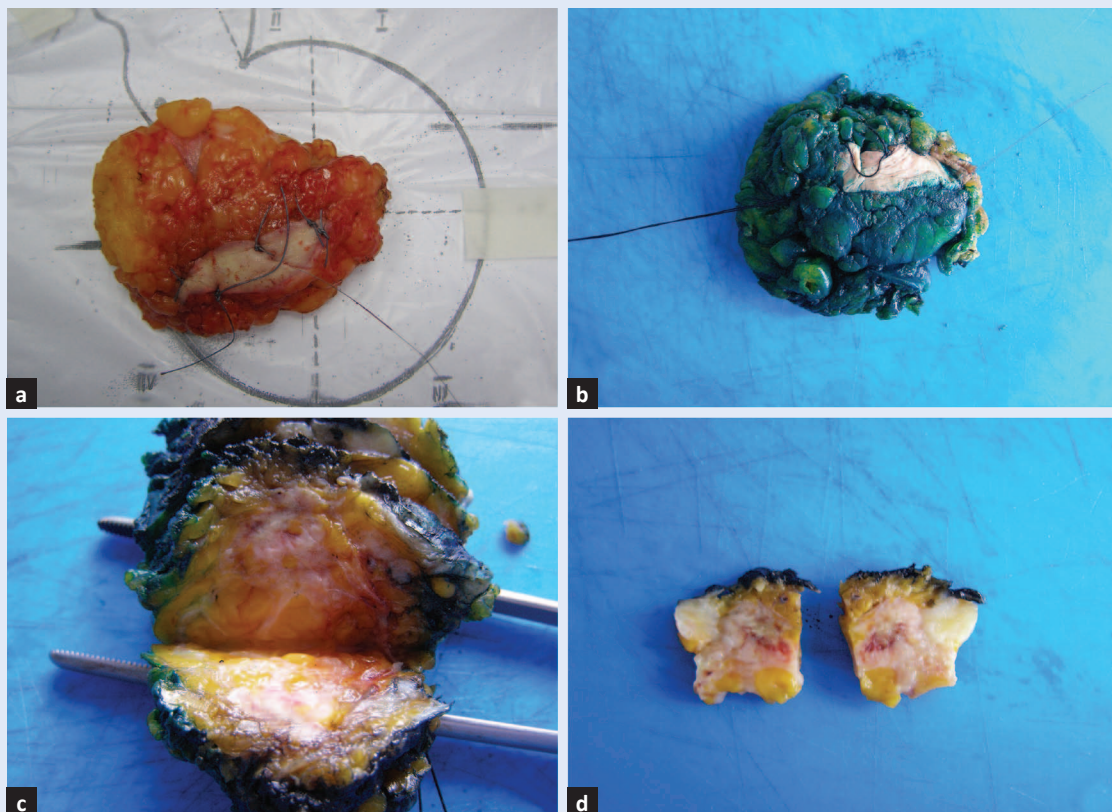
sebne tipove poput tubularnog, mucinoznog, preko dobre i umjereno dobre za većinu miješanih karcinoma kao i klasični lobularni, medularni i papilarni do loše (10-godišnje preživljenje < 50 %) za duktalni invazivni bez drugih osobitosti (BDO), solidni lobularni i miješani duktalni i lobularni⁵. Histološki gradus neovisni je prognostički faktor, neovisan o veličini tumora i statusu limfnih čvorova. Tumori se gradiraju kao dobro, srednje i slabo diferencirani.

Zahvaćenost limfnih čvorova kod pacijentica s klinički negativnim čvorovima procjenjuje se pregledom limfnog čvora čuvara (prvi čvor/čvorovi u području pazuha u koje se drenira limfa iz područja tkiva dojke gdje je smješten tumor). Ako je ovaj limfni čvor pozitivan, odmah se nastavlja s disekcijom pazuha. Prema protokolu koji provodimo u našoj ustanovi (rad) intraoperativno se čvorovi pregledavaju citološki i po potrebi histološki. U definitivnim uzorcima citološki negativnih čvorova vrši se pregled kroz različite nivoe uz primjenu imunohistokemije s protutijelima protiv keratina⁶⁻⁸.

U slučaju pozitivnog limfnog čvora čuvara vrši se disekcija limfnih čvorova pazuha koje treba pažljivo identificirati (slika 1a). Svaki limfni čvor pregleda se histološki. Bilježi se broj pozitivnih limfnih čvorova i najdulji promjer najvećeg limfnog čvora (slika 1b). Kod masivne zahvaćenosti limfnih čvorova tumorom, treba pregledati rub resekcije pazušne disekcije^{1,6-8}.

PATOHISTOLOŠKI PARAMETRI BITNI ZA DALJNI KIRURŠKI PRISTUP

Preoperativna dijagnostika uključuje multidisciplinarni pristup za patologa, što znači poznavanje nalaza drugih disciplina, naročito uvid u radiološki. Danas se incizijska/ekscizijska biopsija koriste samo kada su neophodne, s obzirom na to da je dijagnoza smrznutim rezom postala gotovo iznimkom¹. Biopsija širokom iglom je pak postala standard. Nalaz biopsije širokom iglom treba procjenjivati u sklopu kliničkog i radiološkog nalaza. Histološka dijagnoza trebala bi odgovarati kliničkoj i radiološkoj dijagnozi.



Slika 2. Orijentacija isječka tkiva dojke na shemi (a), označavanje kirurških rubova tušem (b), serijsko preuzimanje isječka (c) i uzorčenje tumora s najbližim rubom resekcije (d).

Postoperativno je pregled kirurških rubova na invazivni rak dojke danas postao izuzetno važan jer poštedni kirurški zahvat (široka ekscizija i tumor-ektomija) danas u 60 – 70 % pacijentica predstavlja terapiju izbora. Kirurg označava uzorak kako bi patolog mogao rekonstruirati orijentaciju resekcijskih rubova i označiti ih tušem (slika 2a i b). Bilježi se veličina reseciranog uzorka u tri dimenzije, prisutnost i veličina kože, prisutnost i mjesto markacijskih igala. Procjenom makroskopskog i mikroskopskog promjera kod invazivnog karcinoma utvrđuje se konačni promjer u milimetrima. Određivanje promjera tumora izuzetno je važno jer se odluka o terapiji, naročito odluka o adjuvantnoj sistemoj terapiji, temelji na promjeru tumora (slika 2c). Udaljenost invazivne komponente tumora od najbližeg ruba resekcije treba izraziti u milimetrima¹ (slika 2d).

PATOHISTOLOŠKI ČIMBENICI KLJUČNI ZA ODABIR SISTEMSKJE TERAPIJE

U liječenju raka dojke, posebno kod odabira sistemske terapije, od iznimne je važnosti određivanje ER-a, PR-a te statusa HER2² i Ki-67 proliferacijskog markera. Metoda određivanja ovih proteina je imunohistokemijska (IH), a svi laboratoriji koji to provode trebali bi imati standardizirane postupnike te unutarnju i vanjsku provjeru postupnika.

Estrogenski receptori uvijek su smješteni u jezgri. Postoji više sustava bodovanja koji postižu semikvantitativnu vrijednost ekspresije estrogenskih receptora⁹. Progesteronski receptori slični su estrogenskima, ali je niži postotak karcinoma dojke s PR-om. U slučaju negativnog bojenja ER-a i/ili PR-a važno je biti siguran u ispravnost bojenja. Ovo testiranje obično se provede unutarnjom kontrolom, jer su jezgre stanica kanalića i acinusa pozitivne u okolnom normalnom tkivu dojke. Ako je ovo bojenje u normalnom tkivu negativno, treba ponoviti bojenje na drugom tumorskom uzorku tkiva.

Tumori s pozitivnim ER-om i PR-om reagirat će na terapiju u 78 % slučajeva, ER pozitivni i PR negativni u 34 %, a u 10 % na terapiju će reagirati i ER negativni i PR negativni. Hormonski status obavezno se utvrđuje i u metastazama, koji može biti različit od primarnog tumora, ali, koliko je pozna-

to, ER- tumori nikada ne daju ER+ metastaze i bolje reagiraju na kemoterapiju. Čini se da ER+ tumori sporije rastu, ali imaju isti metastatski potencijal. ER+ tumori češći su u starijih žena, dobro diferencirani, diploidni, niže mitotičke aktivnosti i rjeđe pokazuju ekspresiju HER2, češće metastaziraju u kosti, meka tkiva i spolne organe dok ER- u jetru i mozak⁹⁻¹¹.

HER2 genska amplifikacija uočena je u 15 – 30 % invazivnih karcinoma dojke i vodi prema prekomjernoj ekspresiji HER2 proteina, a u većini studija povezana je s agresivnom bolesti i lošijom prognozom. U određivanju HER2 statusa, kao što je navedeno, najčešće se koristi IH, koji mjeri ekspresiju HER2 proteina, ali i *in situ* hibridizacijom (ISH): fluorescentna detekcija (engl. *fluorescence in situ hybridization*; FISH), kromogena detekcija (engl. *chromogenic in situ hybridization*; CISH) ili srebrna detekcija (engl. *silver in situ hybridization*; SISH) koja dokazuje amplifikaciju HER2 gena. Semikvantitativna IH interpretacija HER2 ekspresije se temelji na intenzitetu i postotku obojenih stanica. Najčešći nalaz je '0' i '1+' i smatra se HER2 negativnim. Rezultat '2+' je dvojben i treba ga retestirati koristeći FISH/CISH/SISH. Samo '3+' ukazuje nedvojbeno na HER2 pozitivitet. Klinički ishod i korist za pacijentice s IH 3+ i/ili FISH/CISH/SISH pozitivnim tumorima podupiru dijagnostičke nalaze da se IH 3+ i FISH/CISH/SISH pozitivitet poklapaju i mogu izdvojiti pacijentice koje su za terapiju trastuzumabom (Herceptin)¹⁰⁻¹³.

Proliferacijska aktivnost važan je prognostički parametar i rutinski se uglavnom određuje IH s monoklonskim protutijelom Ki67 koje se nalazi samo u stanicama u proliferaciji. Bojenje se prikazuje kao nuklearno prosječno u 16 – 17 % stanica karcinoma dojke¹⁴.

Važno je napomenuti činjenicu da određivanje bioloških parametara podrazumijeva patologa s iskustvom i znanjem, jer lažno negativni ili lažno pozitivni rezultati testiranja koji imaju utjecaj na odluku o sistemoj terapiji i mogu dovesti do umanjivanja šanse za preživljenje. Neophodne su kontrole mlađih kolega jer loša interpretacija ili loš preparat iz tehničkih razloga mogu rezultirati isključivanjem i do 20 % pacijentica s primarnim rakom dojke iz odgovarajuće terapije jer status hormonskih receptora i HER2/neu gena nisu točno određeni¹⁵.

ZAKLJUČAK

Terapija primarnog raka dojke koja je specifična za određenog pacijenta temeljena je uglavnom na podacima o invaziji, metastatskom potencijalu i odgovoru na terapiju. Danas nije moguće odrediti odgovarajuću terapiju pacijenticama s rakom dojke samo na osnovi veličine i tipa primarnog tumora te broja zahvaćenih limfnih čvorova. Prema dogovoru iz St. Gallena 2005. godine terapija se temelji uglavnom na odgovoru na hormonsku terapiju i očekivanom riziku progresije tumora¹⁵. Na Internacionalnoj konferenciji o karcinomima dojke u St. Gallenu 2011. godine predložena je klasifikacija karcinoma dojke prema molekulskom podtipu koja bi predstavljala osnovu za terapiju². Za praktičnu upotrebu preporučene su IH metode umjesto molekulskih zbog šire dostupnosti u većini laboratorija. Prema revidiranoj klasifikaciji iz St. Gallena 2013. godine karcinomi dojke dijele se u sljedeće molekulske podtipove: luminalni A (ER > 1 % i/ili PR > 20 % pozitivan; HER-2 negativan, Ki-67 < 20 %); luminalni B, HER-2 negativan (ER > 1 % i/ili PR > 20 % pozitivan; HER-2 negativan, Ki-67 visok > 20 %); luminalni B HER-2 pozitivan (ER > 1 % i/ili PR > 20 % pozitivan; HER-2 pozitivan, Ki-67 bilo koji); HER-2 pozitivan ne luminalni (ER i PR negativan, HER-2 pozitivan); trostruko negativan (duktalni) (ER i PR negativan, HER-2 negativan).

Luminalni A podtip je najčešći i ima najbolju prognozu, zahtijeva samo hormonsku terapiju kao i dio luminalnih B tumora. HER-2 pozitivni i dio luminalnih B i trostruko negativni tumori zahtijevaju kemoterapiju uz trastuzumab kod HER-2 pozitivnih¹⁶⁻¹⁷.

Ovi podtipovi imaju snažan prognostički značaj i predstavljaju bazu za terapiju. Prognostički faktori su vrlo važni u predviđanju ishoda individualno u pacijenata, te pomoću tih čimbenika liječnici pokušavaju pronaći personaliziranu terapiju za pojedine pacijentice kojom se može izbjeći agresivna terapija i njene teške posljedice.

Izjava o sukobu interesa: Autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

LITERATURA

1. Van de Vijver M. Current and future pathological examination in breast cancer. *E J C* 2006;Suppl.3:121-30.
2. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS i sur. Strategies for subtypes- dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer. *Ann Oncol* 2011;22:1736-47.
3. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989;63:181-7.
4. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long term follow-up. *Histopathology* 1991;19:403-10.
5. Ellis IO, Galea M, Broughton N, Locker A, Blamey RW, Elston CW. Pathological prognostic factors in breast cancer. II. Histological type. Relationship with survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1992;20:479-89.
6. Weaver DL. Pathological evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer: a practical academic perspective from America. *Histopathology* 2005;46:702-6.
7. Cserni G. Evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Histopathology* 2005;46:697-702.
8. Jonjic N, Mustac E, Bekafigo IS, Molek KR, Lovasic F, Lukanovic M et al. Analysis of sentinel lymph node in early breast cancer patient-Clinical Hospital Center Rijek]. *Liječnički vjesnik* 2012;135:201-5.
9. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1999;17:1474-81.
10. Allred DC. Issues and updates: evaluating estrogen receptor, progesterone receptor, and HER2 in breast cancer. *Mod Pathol* 2010;23:52-9.
11. Fernandes RC, Bevilacqua JL, Soares IC, Siqueira SA, Pires L, Hegg R et al. Coordinated expression of er, pr and her2 define different prognostic subtypes among poorly differentiated breast carcinomas. *Histopathology* 2009;55:346-52.
12. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A et al. Use of chemotherapy plus monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001;344:783-92.
13. Piccart M, Lohrisch C, Di Leo A, Larsimont D. The predictive value of HER2 in breast cancer. *Oncology* 2001;61 Suppl 2:73-82.
14. de Azambuja E, Cardoso F, Castro Jr G, Colozza M, Mano MS, Durbecq V et al. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12 155 patients. *Brit J Cancer* 2007;96:1504-13.
15. Viale G. Pathological definition of invasion, metastatic potential and responsiveness to target therapies. *Breast* 2007;16:55-8.
16. Prat A, Perou CM. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Mol Oncol* 2011;5:5-23.
17. Parker JS, Mullins M, Cheang MCU, Leung S, Voduc D, Vickery T et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol* 2009;27:1160-7.