

PROTOKÓŁ ROZPOZNANIA PATOMORFOLOGICZNEGO

RENATA LANGFORT

Protokół badania histologicznego dotyczy złośliwych rozrostów nabłonkowych, nie obejmuje mięsaków i chłoniaków. Podstawą protokołu są zasady zawarte w wytycznych 7. edycji klasyfikacji Amerykańskiego Komitetu do Walki z Rakiem (*American Joint Committee on Cancer* –

AJCC) i Międzynarodowej Unii przeciwko Rakowi (*Union Internationale Contre le Cancer* – UICC) (2009).

Protokół badania powinien zawierać opis makroskopowy i mikroskopowy guza oraz towarzyszących zmian, które pozwalają na ustalenie pTNM (tab. I).

Tabela I. Raport histopatologiczny materiału pooperacyjnego raka płuca

1. OPIS MAKROSKOPOWY	
Rodzaj materiału	<ul style="list-style-type: none"> • segmentektomia • lobektomia • bilobektomia • pulmonektomia • inne
Umiejscowienie guza	<ul style="list-style-type: none"> • płat górny • płat środkowy • płat dolny • dwa płaty płuca Strona: prawa, lewa
Wymiary guza	3 wymiary podane w mm
Opis guza	<ul style="list-style-type: none"> • kolor • odgraniczenie od otoczenia • istnienie martwicy i rozpadu z wytworzeniem jamy • lokalizacja względem struktur anatomicznych (opłucnej, oskrzeli, naczyń płucnych, sąsiedniego płata)
Ocena opłucnej płucnej	<ul style="list-style-type: none"> • wciągnięta • wolna – odległość guza od opłucnej
Brzeg chirurgiczny oskrzela	<ul style="list-style-type: none"> • zajęty przez naciek nowotworowy (R2) • wolny (R0) – odległość guza od brzegu chirurgicznego oskrzela
Brzeg chirurgiczny naczyniowy	<ul style="list-style-type: none"> • objęty naciekiem nowotworowym • wolny – odległość nacieku od brzegu naczyń
Ocena pozostałego mięszu płuca	<ul style="list-style-type: none"> • zmiany zapalne • zmiany niedodmowe • zmiany ogniskowe, guzkowe (ocena odległości od zasadniczego guza, wielkość zmiany, liczba zmian) • ogniska rozedmy
Ocena węzłów chłonnych okolicy brzegu chirurgicznego i wewnątrzplucnych	<ul style="list-style-type: none"> • lokalizacja, wielkość, wygląd, liczba węzłów
2. OPIS MIKROSKOPOWY	
Typ histologiczny raka	wg klasyfikacji WHO (2004)
Stopień zróżnicowania histologicznego	Gx, G1, G2, G3, G4
Ocena mikroskopowa opłucnej płucnej	<ul style="list-style-type: none"> • wolna od nacieku nowotworowego (pP0) • naciekanie opłucnej pP1, pP2, pP3 • zatory nowotworowe w naczyniach opłucnej – zalecane barwienie EVG
Zmiany mikroskopowe w obrębie guza	<ul style="list-style-type: none"> • martwica (przybliżony udział procentowy guza objętego martwicą) • włóknienie, blizna • nacieki zapalne w podścielisku guza i wokół niego • naciekanie pasm włókien nerwowych • obecne struktury drobnobrodawkowe! • wypełnienie światła pęcherzyków wokół guza komórkami raka • widoczne utkanie raka w świetle pobliskich oskrzeli

Tabela I. cd.

Ocena naczyń krwionośnych w guzie	<ul style="list-style-type: none"> • zatory nowotworowe w naczyniach krwionośnych (w obrębie guza, w mięszu otaczającym guz) • V0, • V1, • V2
Ocena naczyń limfatycznych	<ul style="list-style-type: none"> • L0, • L1
Ocena brzegu chirurgicznego oskrzela	<ul style="list-style-type: none"> • bez nacieku nowotworowego (R0) • metaplasja płaskonabłonkowa, zmiany dysplastyczne • naciekanie błony śluzowej (R1) • rak <i>in situ</i> (R1is) • zatory w naczyniach limfatycznych (R1) • naciekanie tkanek okołoskrzelowych (R1)
Ocena brzegu chirurgicznego naczyń krwionośnych	<ul style="list-style-type: none"> • bez nacieku nowotworowego • nacieki w tkankach otaczających • nacieki w przydatkach naczyń • nacieki w ścianie naczyń, w świetle naczyń
Ocena pozostałego mięszu płuca	<ul style="list-style-type: none"> • zmiany niedodmowe • zmiany zapalne, organizujące się zapalenie płuca • lipidowe zapalenie płuca • zapalenie oskrzeli • zmiany o cechach lipoproteinozy • zapalenie śródmiąszkowe z włóknieniem, z przebudową lub bez niej • zmiany ziarniniakowe • zmiany ogniskowe (ogniska AAH, DIPNECH) • dodatkowy guzek (guzki) nowotworowy (guzki satelitarne)
Ocena węzłów chłonnych	<ul style="list-style-type: none"> • grupy nadesłanych węzłów chłonnych • liczba węzłów w grupie • liczba węzłów objętych przerzutami • wielkość przerzutów (rozległe, ogniskowe, mikroprzerzuty) • naciekanie torebki węzłów, tkanek okołowęzłowych
Opis zastosowanych barwień dodatkowych	<ul style="list-style-type: none"> • mucykarmin, PAS z diastazą – ocena obecności śluzu wewnątrzcytoplazmatycznego w komórkach raka • EVG (<i>elastin van Gieson</i>) – ocena zachowania ciągłości opłucnej, zajęcia opłucnej przez nacieki nowotworowe, zatorów nowotworowych w naczyniach • barwienia immunohistochemiczne: <ul style="list-style-type: none"> – NCAM/CD56, chromogranina A, synaptofizyna oceniające czynność neuroendokrynną raka – inne

1. Istotne cechy mikroskopowe, które powinny znaleźć się w protokole histopatologicznym

Raport patomorfologiczny powinien zawierać informacje dotyczące przede wszystkim typu histologicznego raka, stopnia złośliwości histologicznej, oceny opłucnej płuca oraz inne dane, które niekoniecznie mają wpływ

na stopień zaawansowania raka płuca, ale mogą mieć znaczenie dla przebiegu choroby i rokowania.

1.1. Stopień złośliwości histologicznej (*grade*)

Stopień złośliwości histologicznej raka płuca, czyli tzw. *grade*, określa się przede wszystkim na podstawie dojrzałości tkankowej, aktywności mitotycznej (liczba figur

Kryteria oceny stopnia zróżnicowania histologicznego (*grade*) raka płuca

- Gx dotyczy guzów, w których stopień zróżnicowania nie może być ustalony, np. ze względu na złą jakość wycinków lub znaczne zgniecenie nacieku nowotworowego.
- G1 i G2 określają odpowiednio dobry i średni stopień zróżnicowania raka, gdy w badaniu mikroskopowym widoczne są cechy histologiczne pozwalające na określenie jego typu.
- G3 obejmuje nowotwory nisko zróżnicowane, które tracą charakterystyczne utkanie, zwiększa się atypia komórkowa, liczba figur podziału, obszarów martwicy; w grupie tej znalazły się m.in. raki gruczolowe lite, rak gruczolowo-płaskonabłonkowy.
- G4 odnosi się do raków niezróżnicowanych, niewykazujących żadnego typowego różnicowania. Według wytycznych AJCC/UICC do grupy G4 należą również raki wielkomórkowe i pleomorficzne oraz raki drobnkomórkowe.

podziału mitotycznego) oraz obecności martwicy. Oznaczenie stopnia złośliwości ma potencjalne znaczenie zarówno rokownicze, jak i predykcyjne. Obejmuje pięć grup.

W odniesieniu do raków drobnokomórkowych rzadko stosuje się stopień zróżnicowania, gdyż jest oczywiste, że należą do grupy nowotworów o niskim stopniu dojrzałości i o agresywnym przebiegu.

1.2. Ocena zachowania ciągłości opłucnej

Ocena zachowania ciągłości opłucnej jest niezwykle ważna, gdyż wpływa na stopień zaawansowania nowotworu, a tym samym na rokowanie.

Interpretację zajęcia opłucnej zdecydowanie poprawia barwienie EVG (*elastin van Gieson*), które ułatwia prześledzenie ciągłości błon sprężystych. Zalecane jest we wszystkich przypadkach guzów obwodowych zajmujących opłucną płucną.

1.3. Ocena doszczętności zastosowanego leczenia (R = residual tumor)

Ocena doszczętności zabiegu obejmuje każdy margines resekcji chirurgicznej, przede wszystkim oskrzela i naczyń, margines usuniętych węzłów chłonnych, płyn w jamie opłucnowej lub osierdziu z potwierdzonymi badaniami cytologicznymi komórkami nowotworowymi lub guzki nowotworowe w opłucnej lub osierdziu.

Doszczętność pooperacyjną nowotworu określa się symbolem R, margines wolny od nacieku raka jako R0, wykrycie badaniami mikroskopowymi zmian nowotworowych opisywane jest symbolem R1, natomiast naciek widoczny w badaniu makroskopowym określany jako R2.

Naciek nowotworowy widoczny w badaniu mikroskopowym marginesów chirurgicznych oskrzeli (R1) może występować jako:

- rak przedinwazyjny (*in situ*) [R1(is)],
- naciek śluzówki oskrzela zajmujący błonę podśluzową,
- zatory nowotworowe w naczyniach limfatycznych śluzówki oskrzela,
- naciek tkanki okołoskrzelowej (*peribronchium*), również przez ciągłość z pobliskich przerzutowo zmienionych węzłów chłonnych (tab. II).

Ocena marginesu chirurgicznego, jak również rodzaj występujących zmian nowotworowych w brzegu oskrzela, ma istotne znaczenie rokownicze i predykcyjne, w związku z tym informacja o sposobie szerzenia się nacieku raka powinna być zawarta w raporcie patomorfologicznym. Naciek o typie *in situ* rokuje zdecydowanie korzystniej w porównaniu z pozostałymi zmianami rezydualnymi.

W każdym przypadku należy podać długość marginesu chirurgicznego wolnego od nowotworu. Szeroki margines zmniejsza ryzyko wznowy nowotworu. Stwierdzenie hiperplazji nabłonka oskrzelowego, metaplazji lub dysplazji również powinno zostać umieszczone w opisie patomorfologicznym brzegu chirurgicznego.

W ostatniej, siódmej edycji zaproponowano rozbudowanie cechy R o symbol R1(is), podkreślając istnienie w marginesie chirurgicznym raka *in situ*, natomiast dla przypadków resekowanych doszczętnie – ale z potwierdzonymi komórkami nowotworowymi w płynie z opłucnej – o symbol R1(cyt+).

Stwierdzenie nacieku nowotworowego przekraczającego torebkę węzłów chłonnych śródpiersia, okolicy wnęki również jest kwalifikowane jako cecha R1.

1.4. Zatory nowotworowe w naczyniach krwionośnych i limfatycznych

Istnienie zatorów w naczyniach limfatycznych (L) i krwionośnych (V) nie wpływa na zmianę pTNM, ale może mieć znaczenie dla przebiegu choroby, wyboru sposobu postępowania leczniczego i jest istotnym czynnikiem prognostycznym. W związku z tym informacja o ich znalezieniu powinna być umieszczona w raporcie patomorfologicznym.

Znajomość rozmieszczenia naczyń krwionośnych (V) i limfatycznych (L) w prawidłowym mięszu płuca ułatwia ocenę mikroskopową. Naczynia limfatyczne usytuowane są w przegrodach łącznotkankowych wewnątrzplucnych, międzyrazikowych, wokół tętnic i żył oskrzelowych, w opłucnej, nie występują w ścianach pęcherzyków i w przegrodach międzypęcherzykowych. Czasem w świetle naczyń limfatycznych można znaleźć limfocyty.

Naczynia krwionośne towarzyszą oskrzelom, znajdując się w przegrodach międzyrazikowych, zawierają wyraźne komórki śródbłonka oraz pasma włókien sprężystych, a w świetle pojawiają się krwinki czerwone. W wykryciu naczyń pomocne są barwienia dodatkowe: EVG (*elastin van Gieson*) oraz IHC, przede wszystkim z wykorzystaniem markerów śródbłonka naczyń (FVIII, CD31, CD34 oraz D2-40/podoplanina – specyficzny dla naczyń chłonnych). Ze względu na wysokie koszty reakcje IHC rzadko są stosowane w rutynowej diagnostyce.

Stwierdzenie zatorów w naczyniach krwionośnych, zarówno tętnicznych, jak i żylnych, opisuje się cechą pV, natomiast w naczyniach limfatycznych – pL (tab. III, IV).

Według zaleceń UICC i AJCC z 2009 r. występowanie zatorów objęto wspólną cechą *lymph-vascular invasion* (LVI), podkreślając przede wszystkim konieczność mikroskopowej oceny zajęcia naczyń krwionośnych (pV). Stwierdzenie zajęcia naczyń limfatycznych (*lymphangitis carcinomatosa*) często jest możliwe w badaniach obrazowych i zwykle jest przeciwwskazaniem do leczenia operacyjnego. W związku z tym cechą L należy przede wszystkim uwzględnić w ocenie kliniczno-radiologicznej zaawansowania raka (cLy).

Tabela II. Ocena marginesu chirurgicznego (R)

Rx	nie można ocenić doszczętności zabiegu
R0	nie stwierdza się zachowanego utkania nowotworowego (rezydualnego)
R1	w badaniu mikroskopowym widoczne jest utkanie nowotworowe w brzegach
R1(is)	w badaniu mikroskopowym stwierdza się naciek o typie raka <i>in situ</i>
R1(cyt+)	marginesy wolne od nacieku raka, w płynie z opłucnej stwierdza się komórki nowotworowe
R2	w badaniu makroskopowym stwierdza się istnienie nacieku nowotworowego w brzegach chirurgicznych

Tabela III. Ocena zajęcia naczyń krwionośnych przez nowotwór (V)

Vx	nie można stwierdzić zatorów nowotworowych w naczyniach
V0	nie stwierdza się zatorów nowotworowych w naczyniach
V1	badaniem mikroskopowym stwierdza się zatory w naczyniach
V2	badaniem makroskopowym stwierdza się naciekanie ściany naczyń lub zatory nowotworowe w świetle

Tabela IV. Ocena zajęcia naczyń limfatycznych przez nowotwór (L)

Lx	nie można stwierdzić zatorów nowotworowych w naczyniach
L0	nie stwierdza się zatorów nowotworowych w świetle naczyń
L1	badaniem mikroskopowym stwierdza się zatory nowotworowe w naczyniach

Mimo braku wytycznych, istotne jest umieszczenie w raporcie patomorfologicznym informacji o znalezieniu zatorów w naczyniach chłonnych w materiale pooperacyjnym (pL). Zajęcie naczyń limfatycznych koreluje z cechą pN. W związku z tym wydaje się, że zwłaszcza w przypadkach z negatywną cechą pN informacja o ewentualnych zatorach w naczyniach limfatycznych powinna być zawarta w raporcie patomorfologicznym. Jeśli jest to możliwe, należy dążyć do sprecyzowania rodzaju zatorów (pV, pL).

Ocena zatorów w świetle naczyń obejmuje zarówno naczynia podścieliska guza, opłucnej, jak również występujące w mięszu otaczającym nowotwór.

1.5. Ocena rozległości martwicy w guzie

Ocena istnienia i rozległości martwicy, z podaniem orientacyjnej, procentowej jej rozległości w stosunku do przebadanej powierzchni nowotworu, wyrażana jest metodami półilościowymi m.in. skalą 4- lub 2-stopniową.

Skala 4-stopniowa ocenia martwicę jako masyną: 3+ (ponad 50% przebadanego guza), średnią: 2+ (rozległą, ale poniżej 50%), małą: 1+ (rozproszone, niewielkie ogniska), oraz brak martwicy: 0. Prostsza skala obejmuje natomiast tylko dwa stopnie, określające martwicę jako rozległą – zajmującą ponad 50% objętości guza, oraz martwicę stanowiącą poniżej 50%.

Występowanie martwicy, niekiedy połączone z powstaniem jamy w obrębie guza, uważane jest za czynnik źle rokujący, zwykle towarzyszy ono rakom niżej zróżnicowanym, głównie drobnokomórkowym, wielkokomórkowym, wielkokomórkowym neuroendokrynnym, płaskonabłonkowym.

1.6. Naciekanie pasm włókien nerwowych

Wśród ostatnio wymienianych czynników, które mogą mieć znacznie rokownicze, znalazło się naciekanie pasm włókien nerwowych. Niedrobnokomórkowe raki

płuca, w których stwierdza się naciekanie włókien nerwowych, wykazują gorsze rokowanie. Mikroskopowo naciekanie włókien nerwowych rozpoznaje się, gdy widoczne jest zajęcie nerwia przez komórki nowotworowe.

1.7. Występowanie struktur drobnobrodawkowych

W raporcie patomorfologicznym należy umieścić informację o stwierdzeniu struktur drobnobrodawkowych (*micropapillary pattern* – MPP) w utkaniu raka, jak również występowaniu komponentu raka oskrzelikowo-pęcherzykowego, z określeniem orientacyjnego udziału obydwu zmian.

1.7. Występowanie włóknienia i blizny

Włóknienie podścieliska nowotworu i występowanie blizny są czynnikami, które świadczą o gorszym rokowaniu. Istnienie blizny w obwodowych postaciach raka gruczołowego koreluje z naciekaniami opłucnej, z zatorami z komórek raka w naczyniach krwionośnych i przerzutami do węzłów chłonnych.

Wydaje się, że nie tylko sama obecność blizny jest czynnikiem rokowniczym, ale również jej wielkość. Większe blizny świadczą o agresywniejszym przebiegu nowotworu. W związku z tym w opisie mikroskopowym należy umieścić informację o występowaniu włóknienia, a zwłaszcza blizny.

Ocena istnienia i wielkości blizny ma szczególnie istotne znaczenie w małych guzach (≤ 2 cm) o utkaniu raka oskrzelikowo-pęcherzykowego. Pojawienie się blizny jest kryterium różnicowania RGOP z rakiem gruczołowym z wczesną inwazją (MIA).

1.8. Występowanie odczynu zapalnego w utkaniu guza

Obfite nacieki zapalne w podścielisku guza i wokół niego są czynnikiem korzystnym rokowniczo, świadczą o aktywnej odpowiedzi komórkowej na pojawienie się nowotworu.

Częściej stwierdza się je w rakach gruczołowych i płaskonabłonkowych niż w raku oskrzelikowo-pęcherzykowym, wielkokomórkowym neuroendokrynnym czy gruczołowo-płaskonabłonkowym.

1.9. Ocena węzłów chłonnych

Ocena mikroskopowa węzłów chłonnych powinna zawierać dane o liczbie przebadanych węzłów w grupie (N1, N2, N3), rozległości przerzutów, obecności ognisk martwicy oraz zachowaniu ciągłości torebki łącznotkankowej węzłów. Istotna jest informacja o zajęciu tkanek otaczających przez nowotwór. Zalecane jest badanie mikroskopowe co najmniej 6 węzłów chłonnych.

2. Ocena raków płuca po chemioterapii i radioterapii neoadiuwantowej

Stosowanie chemioterapii lub radioterapii przed planowanym zabiegiem chirurgicznym wymaga określenia w mate-

riale pooperacyjnym stopnia reakcji nowotworu na przebyte leczenie. Ocena ta obejmuje zarówno zmiany w komórkach raka, jak i w podścielisku łącznotkankowym. W komórkach nowotworowych określa się stopień uszkodzenia, procent zachowanych komórek nowotworowych, natomiast w podścielisku – rozległość włóknienia, pojawianie się ziarniaków resorpcyjnych typu „około ciała obcego”, odczynu z jasnych histiocytów w miejscu wcześniejszego nacieku nowotworowego, a także występowanie obliteracji naczyń krwionośnych, zwapnień oraz ognisk martwicy. Czasami stopień nasilenia stwierdzanych zmian wstecznych może być bardzo duży, co doprowadza do całkowitej regresji utkania raka lub powstania tzw. ogniska ponowotworowego.

Reakcję nowotworu na leczenie pozwala ocenić zaproponowana przez Junkera 4-stopniowa skala, w której I stopień określa brak reakcji nowotworu na leczenie, IIa – częściową regresję nowotworu z pozostawieniem ponad 10% utkania raka, IIb – częściową regresję z zachowaniem mniej niż 10% utkania nowotworowego, III – całkowitą regresję, brak zachowanego utkania nowotworowego.

Piśmiennictwo

1. AJCC Cancer Staging Handbook. Seventh edition. Lung. Springer 2009; 299-323.
2. Gal AA, Marchevsky AM, Travis WD,: Updated protocol for the examination of specimens from patients with carcinoma of the lung. Arch Pathol Lab Med 2003; 127: 1304-1311.
3. Gibbs AR, Attanoos RL,: Examination of lung specimens. J Clin Pathol 2000; 53: 507-512.
4. Goldstraw P. International Association For The Study of Lung Cancer Staging Manual in Thoracic Oncology. Orange Park, Editorial Rx Press 2009.
5. Gal AA, Marchevsky AM, Travis WD. Updated protocol for the examination of specimens from patients with carcinoma of the lung. Arch Pathol Lab Med 2003; 127: 1304-1311.
6. Junker K, Langner K, Klinke F, et al. Grading of tumor regression in nan-small cell lung cancer: morphology and prognosis. Chest 2001; 120: 1584-1591.
7. Wrona A, Jassem J. Nowa klasyfikacja TNM w raku płuca. Onkol Prakt Klin 2009; 5: 250-260.