

Patologija malignih tumorjev dojke Pathology of malignant breast tumors

Janez Lamovec

Oddelek za patologijo, Onkološki inštitut, Ljubljana

Povzetek: Morfološka opredelitev tumorjev dojke po načelih moderne kirurške patologije tumorja daje kliniku poleg osnovnih podatkov o naravi tumorja tudi pomembne prognostične informacije. Pri karcinomu dojke so med njimi na vrhu pomembnosti: stanje aksilarnih bezgavk (pozitivne ali negativne bezgavke), stopnja malignosti tumorja, velikost tumorja, verjetno tudi histološki tip. Z razvojem modernih tehnologij lahko tako patolog kot klinik uporabljata še mnoge nove metode, s katerimi opredeljujeta tumor tudi biokemično in molekularno. Zaenkrat pa vse te nove opredelitve še ne dosegajo prognostične veljave klasičnih morfoloških lastnosti. Prav zato pa mora patolog skrbno upoštevati priporočila in pravila o obdelavi kirurškega vzorca, da lahko opredeli vrsto morfoloških lastnosti, ki vsebujejo največ napovedno veljavnih podatkov. V članku govorim o osnovnih morfoloških metodah, o posameznih pomembnejših tumorjih dojke ter o nekaterih novih biokemičnih in molekularnih metodah v diagnostiki raka dojke.

Ključne besede: dojka; novotvorbe-patologija

Abstract: The morphological classification of breast tumors, in accordance to principles of modern surgical pathology, provides the clinician not only with the basic data on the nature of tumor but also with important prognostic information. In the carcinoma of the breast, such information are as follows: lymph node status (positive or negative lymph nodes), grade of malignancy, size of the tumor and probably its histological type. The development of new technologies enabled the pathologist as well as the clinician to use numerous new tools and methods to determine a number of biochemical and molecular characteristics of the tumor. At this moment, however, the latter do not achieve the prognostic relevance of classical morphological features. Therefore, the pathologist should carefully follow the recommendations and guidelines for handling and reporting surgical specimens since only by such means all morphological features giving most important prognostic information will be identified. In the article, some basic morphological methods, several important breast tumors, and a few biochemical and molecular methods in the diagnostics of breast cancer are discussed.

Key words: malignant breast neoplasms-pathology

Uvod

Morfološka diagnoza je ena od najbolj ključnih diagnostičnih opredelitev pri obravnavi bolnic s tumorjem dojke. V primerjavi s tradicionalnim patologovim pristopom, ko je šlo

več ali manj le za določitev biološke vrste tumorja, torej za njegovo uvrstitev med benigne ali maligne, je moderna obravnava istega problema mnogo bolj kompleksna.¹ Opredelitev tumorja kot benignega ali malignega sicer ostaja temeljna in najbolj bistvena morfološka in biološka opredelitev, vendar kliniku, ki bolnico zdravi, to ne zadostuje več. V tem kratkem prikazu bom poskušal nanizati bistvene elemente v morfološki diagnostiki tumorjev dojke, ki naj jih, po današnjem razumevanju, upošteva patolog.

Morfološka diagnoza

Biopsija s tanko iglo (aspiracijska biopsija s tanko iglo – ABTI) je v mnogih inštitucijah, tudi na Onkološkem inštitutu, prva in v večini primerov edina predoperativna morfološka diagnostična metoda pri tumorjih dojke;² njena diagnostična vrednost je nesporna. Izkušen citolog ne samo da biološko opredeli proces, ampak lahko dostikrat tudi uvrsti tumor, npr. karcinom, v to ali ono kategorijo. Kot pri drugih diagnostičnih metodah se tudi pri ABTI pojavljajo mnoge pasti, ki lahko zavedejo citologa v napačno diagnozo; hkrati pa sam poseg lahko povzroči spremembe, ki v redkih primerih povzročajo težave pri interpretaciji poznejše kirurške biopsije. Takšne spremembe so npr. z iglo nanešeni epitelijski otočki v stromi ali limfnih/krvnih prostorih.³

Kadar citološka diagnoza ni dokončna, se kirurg odloči za intraoperativno preiskavo z metodo zmrzlega reza. Metoda je zelo zanesljiva,⁴ vendar v novejšem času priporočajo njeno omejevanje, zlasti pri netipljivih tumorjih dojke. Po priporočilih Združenja ameriških kliničnih patologov naj bi zmrzli rez pri tumorjih dojke izvajali le pri tipljivih tumorjih, večjih od 1cm, ne pa pri netipljivih tumorjih, manjših od 1cm, in pri mamografskih kalcifikacijah brez jasnega tumorja.⁵ Glavni razlog za te omejitve je dejstvo, da tudi z zmrzlim rezom včasih ni mogoče posta-

viti diagnoze in so za to potrebni definitivni rezi iz parafinskih blokov; v tkivu, preostalem po zmrzlih rezih, pa je lahko veliko artefaktov. Pri majhnih tumorjih pa po zmrzlih rezih ne ostane več dovolj tkiva za parafinski vklop – točna histološka diagnoza pa je najpomembnejša zahteva, ki naj jo patolog izpolni.

Obdelava in evaluacija makroskopskega vzorca po določenih in uveljavljenih pravilih stroke sta osnovni pogoj za vse poznejše diagnostične postopke.⁶ Tu naj omenimo le obvezno radiografijo vzorca pri netipljivih tumorjih; mikrokalcinacije v radiografiranem vzorcu nam povedo, da je kirurg res ekscidiriral pravo mesto.

Prvo diagnostično in prognostično pomembno dejanje, ki je povezano z makroskopskim pregledom vzorca, je določitev velikosti tumorja, vsaj v dveh premerih. Velikost tumorja je pomemben prognostični dejavnik, ki močno vpliva na 15-letno⁷ in tudi na 20-letno preživetje pri karcinomu dojke.⁸

Z mikroskopskim pregledom vzorca uvrstimo tumor v eno od številnih kategorij; obstajajo različne klasifikacije, najbolj razširjena je klasifikacija tumorjev dojke WHO.⁹ Povsem jasno je, da je opredelitev med benignim in malignim tumorjem ključnega pomena, manj jasno je, ali je tip malignega tumorja, predvsem karcinoma, neodvisen prognostični dejavnik; novejša poročila so pritrtila.^{7,10-12} Kot kaže, ima najpogostejši histološki tip, infiltrativni duktalni karcinom – IDC, najslabšo prognozo, mešani lobularni karcinom in medularni pa povprečno. Infiltrativni lobularni (ILC), mešani tubularni in mešani IDC (IDC + specialni tip) imajo dobro prognozo. Tubularni, kribriformni, mucinozni in sekretorni karcinom pa imajo odlično prognozo.^{7,11} V večini objavljenih serij zajema IDC približno 50 do 80 % vseh vrst karcinomov, drugi najpogostejši tip, ILC, pa okrog 10-14 %.^{7,11,13} V naši domači seriji, v kateri smo primerjali pogostost posameznih tipov karcinoma dojke v enem letu v dveh različnih

desetletjih, je bila frekvenca IDC povprečno 70 %, ILC pa 10 %.¹⁴

Infiltrativni duktalni karcinom (IDC) ni enotna kategorija, pojavlja se v nešteti morfoloških variacijah, včasih s spremljajočim intraduktalnim (in situ duktalnim) karcinomom. Poskus približnega urejevanja teh variacij je *določanje stopnje malignosti*. Zelo popularna metoda gradacije IDC je metoda po Scarff-Bloom-Richardsonu, v Elstonovi modifikaciji.¹⁵ Po tej metodi točkujemo stopnjo tvorjenja tubularnih struktur (1 do 3 točke), stopnjo pleomorfizma celic (1 do 3 točke) ter število mitoz na 10 velikih vidnih polj (1 do 3 točke). Karcinom, ki zbere od 3 do 5 točk, je dobro diferenciran (gradus I), tisti s 6 do 7 točkami zmerno (gradus II) in oni z 8 do 9 točkami slabo diferenciran (Gradus III). Prognoistična veljavnost stopnjevanja malignosti je bila že večkrat potrjena.¹⁶⁻¹⁷ Metoda je dovolj reproducibilna.¹⁸ Diskusija o tem, kolikšna je dejanska prognoistična vrednost gradacije karcinomov dojke, pa še ni zaključena.¹⁹⁻²⁰

Infiltrativni lobularni karcinom (ILC) je biološko dokaj poseben tip karcinoma dojke, ki ga odlikuje relativno kroničen potek in predvsem poseben način metastaziranja, ki se lahko bistveno razlikuje od tistega pri IDC. ILC je načeloma drobnocelični tip karcinoma, ki raste disociativno; gostota tumorskih celic je pri različnih tumorjih zelo različna. Pogosto ga spremlja in situ lezija (in situ lobularni karcinom). Tudi pri tem karcinomu lahko uporabljamo Scarff-Bloom-Richardsonovo stopnjevanje malignosti, čeprav je do nedavnega prevladovalo načelo, naj se ta način gradiranja uporablja le pri duktalnem karcinomu oziroma njegovih variantah. Velika večina primerov ILC je po tej razvrstitvi 1. ali 2. stopnje malignosti. Tumor značilno bolj pogosto kot IDC metastazira v peritonej in retroperitonej, votle abdominalne organe, notranje genitalije in leptomeninge.²¹⁻²³ Obstaja več podtipov: klasični, tubulolobularni, alveolarni, solidni in pleomorfni. Zadnje tri različice imajo slabšo prognozo.²⁴ Pogostost bilateral-

nosti boleznih pri ILC je večja kot pri IDC.²⁵

Duktalni karcinom in situ (intraduktalni karcinom – DCIS) je karcinom, pri katerem karcinomske celice rastejo znotraj duktalnega sistema, ne preraščajo bazalne membrane in ne infiltrirajo strome. Tudi ta tip karcinoma je znan v številnih morfoloških variantah, ki so do nedavnega veljale le za morfološke zanimivosti. V preteklosti je bil ta tip karcinoma redek in je zajemal le kakšnih 0,8 do 5 % vseh karcinomov dojke; v obdobju mamografije pa se je istočasno s pogostejšim odkrivanjem majhnih tumorjev dojke povečalo tudi število primerov DCIS, ki zdaj v nekaterih serijah že dosega 15 do 20 % vseh karcinomov.²⁶ Gre torej za pomemben tip karcinoma dojke, ki je zdaj v središču zanimanja raziskovalcev na področju karcinoma dojke. Ker kaže, da vsi različni tipi nimajo enake sposobnosti prehoda v invazivni tip karcinoma in s tem enake prognoze, jih skušamo uvrstiti v morfološko relevantne kategorije. Obstaja več sistemov klasifikacij, najnovejši, ki ga predlagajo Holland in sod.²⁷, se zdi zelo logičen, relativno reproducibilen in preprost. Po tem sistemu ocenjujemo dve lastnosti – stopnjo pleomorfizma tumorskih celic in stopnjo arhitekturne organizacije. Na ta način je DCIS razdeljen na tri skupine: dobro diferencirani tip, intermediarni in slabo diferencirani tip. Kot kaže, so mešani tipi redki, čeprav se občasno pojavljajo.²⁷ Študije z dolgoletnim sledenjem kažejo, da je ta način klasifikacije DCIS prognoistično smiseln.²⁸ Obstajajo tudi korelacije med tipom DCIS in klinično prezentacijo – tako je npr. Pagetova bolezen mamile skoraj izključno povezana s slabo diferenciranim tipom DCIS, slednjega pa tudi, mnogo pogosteje kot druge tipe, odkrijemo pri presejalni mamografiji.²⁹ Slabo diferencirani tip DCIS je tudi redkeje pozitiven na steroidne receptorje ter pogosteje kot druga dva tipa vsebuje tumorsko supresivni gen p53 ter onkogen c-erb-B2, hkrati pa ga odlikuje večja proliferativna aktivnost, ki jo lahko prikažemo z imunohistokemijsko reaktivnostjo na

antigen Ki67.³⁰ Biološki potek DCIS in prognostično veljavnost opisane klasifikacije nam najbolj razkrivajo redke študije bioptičnih vzorcev dojke, v katerih so bili spregledani diskretni fokusi DCIS; v teh primerih bolnice, razen začetne biopsije, niso bile drugače zdravljene. V eni takšnih študij se je izkazalo, da so bolnice s slabo diferenciranim tipom DCIS doživele njegov recidiv ali recidiv invazivnega duktalnega karcinoma v 50 % primerov, tiste z dobro diferenciranim karcinomom pa le v okoli 14 % primerov. V tej študiji so kot diskriminacijsko lastnost ocenjevali le pleomorfizem tumorskih celic, doba sledenja pa je trajala od 1 do 28 let.²⁸ Novejša konsenzna konferenca ekspertov je potrdila smiselnost gradiranja DCIS.³¹

DCIS je pogost spremljevalec IDC. Kaže, da obstaja paralelizem med diferenciacijo DCIS in IDC, redkejši so primeri neskladnosti v diferenciaciji med obema vrstoma karcinoma; biološki potek pa sledi diferenciaciji invazivnega karcinoma.³² To tudi dokazuje, da so mnoge prognostične biološke in genetske lastnosti v klonu neoplastičnih celic pri karcinomu dojke določene že v preinvazivnem stadiju bolezni ter da pri nastajanju invazivnega raka ne gre za progresijo v smislu povečevanja stopnje displazije tumorskih celic.³³

V zvezi z razpravo o DCIS moram omeniti še entiteto imenovano *duktralni karcinom in situ* z *mikroinvazijo*. Ta je definiran kot DCIS z mikroskopskimi žarišči invazivnega karcinoma ob enem ali več duktusih, ki pa naj ne presega več kot 10 % površine pregledanega histološkega stekelca.³⁴ Nova klasifikacija UICC definira minimalno invazijo kot takšno rast tumorskih celic v stromo, ki v nobenem žarišču ne presega velikosti 0,1cm.³⁵ Čeprav biološki potek tega tipa karcinoma ni povsem jasen, kaže, da je po poteku bližji DCIS kot IDC. Ekscizijska biopsija pogosto pušča rezidualni tumor v preostalem tkivu dojke; kaže da je mastektomija brez dodatnega zdravljenja zadosten poseg.³⁴

Infiltrativni duktalni karcinom z masivno in-

traduktalno komponento je različica IDC z več kot 25 % intraduktalne komponente, ki se širi tudi zunaj glavne tumorske mase.³⁶⁻³⁷ Tumor pogosteje lokalno recidira, soglasja o optimalnem zdravljenju ni.

Lobularni karcinom in situ (LCIS) ali lobularna neoplazija je in situ neoplastična lezija lobulusov; gre za solidno proliferacijo drobnih lobularnih celic brez invazije skozi bazalno membrano lobulusov oziroma duktusov. Lezija je v veliki večini primerov mikroskopska, odkrita v biopsiji, ki so jo napravili iz drugih razlogov, in ima značilno morfologijo. Stališča o pomenu te lezije še vedno niso čisto enotna, čeprav prevladuje stališče, da je pomemben kazalec za poznejši razvoj invazivnega raka; ta naj bi bil pri bolnicah, pri katerih so odkrili LCIS, približno desetkrat pogostejši kot pri ženskah brez obremenjujočih faktorjev.³⁸⁻³⁹ Patolog mora znati ločevati med LCIS in podobno lezijo – atipično lobularno hiperplazijo, pri kateri pa je podobno tveganje le od štirikrat do petkrat večje,⁴⁰ ter med LCIS in lobularno kancerizacijo, pri kateri gre za širjenje DCIS v lobularne enote.

Poleg opisanih vrst karcinoma dojke obstaja še vrsta drugih, redkejših tipov, na kratko naj omenimo le nekatere. *Tubularni karcinom* je redka oblika dobro diferenciranega duktalnega karcinoma, ki ima zelo dobro prognozo.⁴¹ Ima značilno morfologijo; v njegovi diferencialni diagnozi moramo predvsem upoštevati nekatere vrste benignih fibrocističnih bolezni, zlasti adenoze tumorje s področji mikroglandularne adenoze. Pri ločevanju se moramo včasih zateči po pomoč k imunohistokemijskim preiskavam: kanalčki tubularnega karcinoma niso obdani z elementi bazalnih membran, npr. s kolagenom IV, v nasprotju z mikroglandularno adenozo. V tej zvezi naj omenimo še kategorijo *mešanega tubularnega karcinoma*, kot jo definirajo Ellis in sodelovci,¹¹ po tej definiciji moramo v to skupino uvrstiti vse infiltrativne duktalne karcinome, ki vsebujejo elemente tubularnega karcinoma. Ta vrsta tumorja naj bi imela

boljšo prognozo kot običajni IDC.¹¹ Tumor, ki je soroden tubularnemu karcinomu in ki ima prav tako zelo dobro prognozo je *kribriformni karcinom*; 5-letno preživetje je 100 %, 10-letno le malo manj.⁴² Tumor z zelo dobro prognozo je tudi *mucinozni karcinom*, a le v čisti obliki. Gre za neuroendokrino programiran tip karcinoma, kar so dokazali z imunohistokemijskimi raziskavami.⁴³ Redek, a prognostično prav tako zelo ugoden tip je *sekretorni karcinom*, ki izloča alfa-laktalbumin. Moramo ga ločiti od nekaterih drugih vrst infiltrativnih in neinfektivnih karcinomov, ki jih odlikuje sekretorna aktivnost, a nimajo drugih značilnosti tega tumorja.⁴⁴ *Medularni karcinom* je poseben tip karcinoma dojke, ki ga opredeljujejo anaplazija tumorskih celic, sincicijski tip rasti, ekspanzivni robovi in gosta limfoplazmocitna infiltracija strome. Gre za relativno kontroveržno entiteto, ki ji pripisujejo zelo dobro⁴⁵ ali pa le povprečno ugodno prognozo.¹¹ To neskladje delno pojasnjuje slaba reproducibilnost morfološke diagnoze.⁴⁶ *Papilarni karcinom* je pogostejši v neinvazivni (in situ) obliki, a zelo redek kot invazivni tip.⁴⁷ Glede na njegovo redkost ni zanesljivega znanja o njegovi prognozi. Pač pa je zanimiv zaradi nekaterih vidikov, ki zadevajo diferencialno diagnozo (problem ločevanja benignih in malignih papilarnih lezij; problem psevdoinvazije ob benignih papilomih) ter v zvezi z epidemiološkimi lastnostmi nekaterih benignih papilarnih lezij. *Multipli intraduktalni papilomi*, lezije, ki so včasih težko ločljive od papilarnega karcinoma, so v nasprotju s solitarnim benignim papilomom izraziti označevalci za kasnejšo malignost.⁴⁸ Druga lezija, *juvenilna papilomatoza* (Swiss-cheese mastopathy), je oblika fibrocistične bolezni in ne prava papilarna lezija. Zanimiva je zato, ker se pojavlja pri mladostnicah in je označevalec za morebitno maligno bolezen v dojki pri bolničnih bližnjih sorodnicah.⁴⁹

Pagetova bolezen mamile je posebna klinično-patološka entiteta, ki jo označuje sprememba mamile, večinoma kot ekcematozna

rdečina: je intraepidermalni karcinom, ki ga skoraj vedno spremlja spodaj ležeči invazivni duktalni ali intraduktalni karcinom dojke. Patolog jo mora ločiti od in situ skvamoznega karcinoma in malignega melanoma.⁵⁰

Obstaja še nekaj tipov epiteljskih malignih tumorjev, ki pa so zelo redki in jih tu ne obravnavamo.

Maligni mezenhimski tumorji dojke so zelo redki, naj omenimo entiteto, znano pod imenom *filodni tumor* oziroma cistosarkoma filodes. V veliki večini primerov je tumor benign, histološko podoben fibroadenom, le da ima veliko bolj celularno stromo. V nekaterih primerih je mejno malign in le redkokdaj jasno malign, z možnostjo metastaziranja. Tudi maligni tumorji so, tako kot benigni, fibroepiteljskega tipa, metastazira pa le maligno spremenjena stromalna komponenta, ki ima lahko videz enega od znanih vrst sarkoma. Problem patologa v zvezi s tem tumorjem je, da ni povsem jasnih kriterijev za razlikovanje tistih, ki bodo metastazirali, saj metastazirajoča komponenta ni vedno nedvoumno malignega videza.⁵¹ Čisti sarkomi dojke so še veliko redkejši, omenimo naj le *angiosarkom*, sam po sebi zelo redek tip sarkoma, ki po mehkih tkivih in koži zraste še najpogosteje v dojki.⁵²

Primarni maligni limfom dojke je ob malignih epiteljskih in mezenhimskih tumorjih tretja kategorija raka dojke. To je redka oblika malignega tumorja dojke in je večinoma visoko maligni limfom B. Vsaj nekateri tipi pripadajo posebni skupini limfomov MALT (mucosa associated lymphoid tissue), ki jih označuje počasna rast in relativno pozna diseminacija, dostikrat na druga mesta MALT.⁵³

Lezija, ki jo kirurg zelo pogosto, če ne najpogosteje, izreže iz dojke pa je *fibrocistična bolezen* ali *mastopatija*. Sprememba je tako pogosta, da so predlagali, naj se v njenem imenu beseda bolezen nadomesti z besedo sprememba. Njena proliferativna različica – *proliferativna fibrocistična bolezen* pa nosi različno, večinoma manjšo stopnjo tveganja za vznik poznejšega raka dojke; ta je pri *atipični intra-*

duktalni in intralobularni hiperplaziji, ki se lahko pojavljata v sklopu fibrocistične bolezni, štiri do petkrat večja kot pri ženskah brez dejavnikov tveganja.⁴⁰ Hkrati lahko nekatere lezije v okviru fibrocistične bolezni tudi z morfološkega stališča povzročajo diferencialno diagnostične težave.

Ocena ekscizijskih robov vzorca dojke

Morfološka diagnoza, pa čeprav je še tako natančno opredeljena in prognostično relevantna, ne pomeni prav veliko, če je ne spremlja podatek o tem ali sta bili ekscizija ali resekcija zadostni, t.j. ali so kirurški robovi prosti, brez infiltratov tumorskega tkiva. Da prideemo do tega podatka, moramo upoštevati določena pravila.

Vzorec mora priti v roke patologa intakten; *kirurg naj ga ne prereže!* Njegova radovednost bo potešena pozneje, seveda v prid bolnice. Kirurg naj vzorec ekscizijske biopsije orientira, najlažje z ligaturami. Patolog robove vzorca obarva s tušem, jih osuši in *šele potem prereže vzorec*. Tuš na obarvani površini bo ostal na histoloških rezinah; tako bo patolog lahko mikroskopsko ocenjeval radikalnost ekscizije. Vzorce z nepalpabilnim tumorjem moramo poprej radiografirati (glej zgoraj). Obstajajo različne tehnike rezanja in vzorčenja ekscizijskega vzorca.⁶

Število vzorcev, ki naj jih patolog vzame za histološki pregled, je odvisno od velikosti tumorja; v zadnjem času so zahteve po tumorskem tkivu velike – vzorce tumorskega tkiva potrebuje biokemik za določevanje steroidnih receptorjev, del tkiva se odvzame za pregled s pretočno citometrijo, del tkiva se globoko zamrzne za eventualne poznejše raziskave itd. Prvo vodilo pa je: razdajanje tkiva naj nikakor ne gre na račun osnovne zahteve po histološki diagnozi. Zanj pa potrebujemo dovolj tkiva.

Histološki pregled vzorca ne sme biti omejen le na pregled tumorja, ampak mora vključ-

evati tudi pregled okolišnega tkiva dojke in pri mastektomijskih vzorcih tudi pregled ostalih kvadrantov. Tako lahko ugotovimo, ali obstajajo multifokalna oziroma multicentrična žarišča tumorja ali oddaljena karcinomska limfangioza; ocenjujemo pa tudi spremembe netumorskega tkiva – fibrocistično bolezen itd.

Pregled bezgavk

Pregled aksilarnih ali regionalnih bezgavk je glede napovedi izida bolezni najpomembnejše patologovo dejanje pri ocenjevanju bioptičnega vzorca (ekscizijske biopsije, mastektomijskega vzorca). *Prisotnost ali odsotnost metastaz v aksilarnih bezgavkah je najpomembnejši samostojni prognostični faktor pri karcinomu dojke*. Hkrati pa je prognoza pri bolnicah, ki imajo zajete 1 do 3 bezgavke, bistveno boljša kot pri tistih, ki imajo metastaze v več bezgavkah.^{7,54-55} Patologu ne sme biti žal truda in časa, ki ga porabi za iskanje in izolacijo bezgavk.

Molekularni označevalci pri karcinomu dojke

V preteklih petnajstih letih smo bili priča velikemu razvoju v razumevanju molekularnih mehanizmov pri nastanku in širjenju raka, kar so med drugim omogočile tudi številne nove tehnologije in metode. Mnoge od njih uporabljajo tudi patologi, nekatere že pri rutinskem delu. Najbolj uporabljana, zares rutinska metoda v patologiji, je imunohistokemija. Z njo odkrivamo številne celične antigene in proteine, ki se barvno prikažejo v jedrih ali citoplazmi celic. To metodologijo uporabljamo tudi pri identifikaciji nekaterih novih dejavnikov, ki imajo določeno vlogo pri nastanku, proliferaciji in širjenju karcinomskih celic – taki so npr. epidermalni rastni faktor, onkogeni in njihovi produkti (c-erb B2, ras, c myc itd), produkti supresorskih genov, npr.

p53, proliferacijska faktorja Ki67 in PCNA, metaloproteinaze, katepsin D itd.^{7,56} Nedavno so odkrili dva gena, ki določata, kakšna bo občutljivost za rak dojke – BRCA I⁵⁷ in BRCA II;⁵⁸ mutacija teh dveh genov je najbrž odgovorna za približno 2/3 vseh hereditarnih rakov dojke ali za 5 % vseh rakov dojke.⁵⁹ Čeprav implikacije tega odkritja še niso v celoti ovrednotene, gre najbrž za velik preboj pri raziskovanju tumorjev v zadnjih desetletjih. Intenzivno raziskujejo tudi vlogo kromosomskih defektov pri širjenju in metastaziranju raka dojke.⁶⁰

Določanje estrogenskih in progesteronskih receptorjev je že dolgo uveljavljena metoda; prognostična "teža" teh dejavnikov še vedno ni povsem jasna. Prognostični pomen hormonskih receptorjev se zdi veljaven le v prvih petih letih, pri poznejšem preživetju se ta pomen izgubi.⁶¹ Pomembno je vedeti, da je imunohistokemijsko določanje steroidnih receptorjev prav tako natančno in zanesljivo kot biokemično.⁶²

Pretočna citometrija

Določanje ploidije celic in deleža celic v različnih fazah celičnega ciklusa s pretočno citometrijo je tudi na Onkološkem inštitutu že rutinske metoda. Nekatere študije kažejo, da je podatek o deležu celic v fazi S morda prognostično pomembnejši kot podatek o sami ploidiji.⁶³ V študiji o invazivnem karcinomu dojke iz Onkološkega in štituta podatek o ploidiji v multivariantni analizi ni nastopal kot samostojni prognostični faktor.⁶⁴ Raziskovanje na tem področju še ni zaključeno.

Zaključek

Ob vsem povedanem, je očitno, da je poglobljena vloga patologa pri diagnostiki raka na dojki ob sami histološki diagnozi tudi čim natančnejša prognostifikacija. To pa nam omo-

goča skrbna morfološka analiza vzorca, v novejšem času pa tudi uporaba modernih metod. Ob vsem tem pa zdajšnja dognanja kažejo, da še tako napredne, moderne in tehnološko zahtevne metode ne prekašajo določitve standardnih prognostičnih dejavnikov, kot so velikost tumorja, histološki gradus in prizadetost bezgavk.⁷ Tako npr. tudi kaže, da je natančno histološko gradiranje karcinoma dojke prognostično pomembnejše kot določevanje indeksa DNA, frakcije faze S, estrogenskih receptorjev, epidermalnega rastnega faktorja, onkogene C-myc in protitelisa na epiteljski mucin.¹⁰ To z drugimi besedami pomeni, da metode kirurške patologije, če jih izvajamo po predpisih stroke, še vedno ohranjajo vlogo ene najpomembnejših metod pri opredeljevanju in napovedovanju poteka rakaste bolezni. To pa seveda ne pomeni, da ne bo, morda ne v tako daljni prihodnosti, prišlo do zares revolucionarnih odkritij v molekularni biologiji raka dojke, ki bodo v temlju spremenila naše dosedanje koncepte pa tudi praktično delovanje na tem področju.

Literatura

1. Simpson JF, Page DL. Status of breast cancer prognostication based on histopathologic data. *Am J Clin Pathol* 1994; **102**: S3-S8.
2. Us Krašovec M, Golouh R, Lamovec J. Aspiracijska biopsija tumorjev dojke. *Zdrav Vestn* 1982; **51**: 549-53.
3. Youngson BJ, Cranor M, Rosen PP. Epithelial displacement in surgical breast specimens following needling procedures. *Am J Surg Pathol* 1994; **18**: 896-903.
4. Holaday WJ, Assor D. Ten thousand consecutive frozen sections: A retrospective study focusing on accuracy and quality control. *Am J Clin Pathol* 1974; **61**: 769-77.
5. Fechner RE. Frozen section examination of breast biopsies. *Am J Clin Pathol* 1995; **103**: 6-7.
6. Schnitt SJ, Connolly JL. Processing and evaluation of breast excision specimens: a clinically oriented approach. *Am J Clin Pathol* 1992; **98**: 125-37.

7. Elston CW, Ellis IO . Prognostic factors in breast cancer: handout. 20th international congress of the International Academy of Pathology, Hong Kong 1994.
8. Rosen PP, Groshen S. Factors influencing survival and prognosis in early breast carcinoma (TINOMO-TININO): assessment of 644 patients with median follow up of 19 years. *Surg Clin N Amer* 1990; **70**: 937-62.
9. The World Health Organization – Azzopardi JG, Chepick OF, Hartmann WH et al. The World Health Organization histological typing of breast tumors – second edition. *Am J Clin Pathol* 1982; **78**: 806-16.
10. Page DL. Prognosis and breast cancer: recognition of lethal and favorable prognostic types. *Am J Surg Pathol* 1991; **15**: 334-49.
11. 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.
12. Fisher ER, Anderson S, Redmond C, Fisher B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project Protocol B-06: 10-year pathologic and clinical prognostic discriminants. *Cancer* 1993; **71**: 2507-14.
13. Rosen PP, Oberman HA. Tumors of the mammary gland. *Atlas of tumor pathology*. Third series. Fascicle 7. Washington DC; Armed Forces Institute of Pathology: 1993.
14. Zidar A, Lamovec J. Histologic types of breast carcinoma: comparison of one year experience in two different decades. *Pathol Res Pract* 1987; **182**: 579-80.
15. Elston CW. Grading of invasive carcinoma of the breast. In: Page DL, Anderson TJ eds. *Diagnostic histopathology of the breast*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1987: 300-11.
16. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991; **19**: 403-10.
17. Page DL, Ellis IO. Histologic grading of breast cancer: let's do it. *Am J Clin Pathol* 1995; **103**: 123-4.
18. Frierson HF, Wolber RA, Berean KW et al. Interobserver reproducibility of the Nottingham modification of the Bloom and Richardson histologic grading scheme for infiltrating ductal carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1995; **103**: 195-8.
19. Roberti NE. The role of histologic grading in the prognosis of patients with carcinoma of the breast. Is this a neglected opportunity? *Cancer* 1997; **80**: 1708-16.
20. Burke HB, Henson DE. Histologic grade as a prognostic factor in breast carcinoma. *Cancer* 1997; **80**: 1703-5.
21. Harris M, Howell A, Chrissohou M, Swindell RIC, Hudson M, RA Sellwood. A comparison of the metastatic pattern of infiltrating lobular carcinoma and infiltrating duct carcinoma of the breast. *Br J Cancer* 1984; **50**: 23-30.
22. Lamovec J, Zidar A. Association of leptomeningeal carcinomatosis in carcinoma of the breast with infiltrating lobular carcinoma: an autopsy study. *Arch Pathol Lab Med* 1991; **115**: 507-10.
23. Lamovec J, Bračko M. Metastatic pattern of infiltrating lobular carcinoma of the breast: an autopsy study. *J Surg Oncol* 1991; 28-33.
24. DiConstanzo D, Rosen PP, Gareen I, Franklin S, Lesser M. Prognosis in infiltrating lobular carcinoma: an analysis of "classical" and variant tumors. *Am J Surg Pathol* 1990; **14**: 12-23.
25. Brožet P, de la Rochefordiere A, Scholl SM, et al. Contralateral breast cancer: annual incidence and risk parameters. *J Clin Oncol* 1995; **13**: 1578-83.
26. Schnitt SJ, Silen W, Sadowsky NL, Connolly JL, Harris JR. Ductal carcinoma in situ (intraductal carcinoma) of the breast. *N Engl J Med* 1988; **318**: 898-903.
27. Holland R, Peterse JL, Millis RR et al. Ductal carcinoma in situ; a proposal for a new classification. *Semin Diagn Pathol* 1994; **11**: 167-80.
28. Eusebi V, Feudale E, Foschini MP et al. Long-term follow-up of in situ carcinoma of the breast. *Semin Diagn Pathol* 1994; **11**: 223-35.
29. Bobrow LG, Happerfield LC, Gregory WM, Spriggall RD, Millis RR. The classification of ductal carcinoma in situ and it's association with biological markers. *Semin Diagn Pathol* 1994; **11**: 199-207.
30. Zafrani B, Leroyer A, Fourquet A et al. Mammographically-detected ductal in situ carcinoma of the breast analyzed with a new classification. A study of 127 cases: correlation with estrogen and progesterone receptors, p53 and c-erb-2 proteins, and proliferative activity. *Semin Diagn Pathol* 1994; **11**: 208-14.
31. The concensus conference committee. Concensus conference on classification of ductal carcinoma in situ. *Cancer* 1997; **80**: 1798-1802.

32. Lampejo OI, Barnes DM, Smith P, Millis RR. Evaluation of infiltrating ductal carcinomas with a DCIS component: correlation of the histologic type of the in situ component with grade of the infiltrating component. *Semin Diagn Pathol* 1994; **11**: 215-22.
33. Gupta SK, Douglas-Jones AG, Fenn N, et al. The clinical behavior of breast carcinoma is probably determined at the preinvasive stage (ductal carcinoma in situ). *Cancer* 1997; **80**: 1740-5.
34. Rosner D, Lane WW, Penetrante R. Ductal carcinoma in situ with microinvasion: a curable entity using surgery alone without need for adjuvant therapy. *Cancer* 1991; **67**: 1498-503.
35. TNM classification of malignant tumours. UICC. 5th ed. New York: Wiley-Liss; 1997.
36. Holland R, Connly JL, Gelman R et al. The presence of an extensive intraduct component following a limited excision correlates with prominent residual disease in the remainder of the breast. *J Clin Oncol* 1990; **8**: 113-8.
37. Schnitt SJ, Connly JL, Harris JR et al. Pathologic predictors of early local recurrence in stage I and stage II breast cancer treated by primary radiation therapy. *Cancer* 1984; **53**: 1049-57.
38. Page DL, Kidd TE Jr, Dupont WD, Simpson JF, Rogers LW. Lobular neoplasia of the breast: higher risk for subsequent invasive cancer predicted by more extensive disease. *Hum Pathol* 1991; **22**: 1232-39.
39. Ottesen GL, Gravensen HP, Blichert-Toft M, Zedeler K, Andersen JA on behalf of the Danish Breast Cancer Cooperative Group. Lobular carcinoma in situ of the female breast: short-term results of a prospective nationwide study. *Am J Surg Pathol* 1993; **17**: 14-21.
40. Dupont WD, Page DL. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *New Engl J Med* 1985; **312**: 146-51.
41. McDivitt RW, Boyce W, Gersell D. Tubular carcinoma of the breast: clinical and pathological observations concerning 135 cases. *Am J Surg Pathol* 1982; **6**: 401-11.
42. Page DL, Dixon JM, Anderson TJ, Lee D, Stewart HJ. Invasive cribriform carcinoma of the breast. *Histopathology* 1983; **7**: 525-36.
43. Scopsi L, Andreola S, Pilotti S et al. Mucinous carcinoma of the breast: a clinicopathologic, histochemical, and immunocytochemical study with special reference to neuroendocrine differentiation. *Am J Surg Pathol* 1994; **18**: 702-11.
44. Lamovec J, Bračko M. Secretory carcinoma of the breast: light microscopical, immunohistochemical and flow cytometric study. *Mod Pathol* 1994; **7**: 475-9.
45. Ridolfi RL, Rosen PP, Port A, Kinne D, Mike V. Medullary carcinoma of the breast: a clinicopathologic study with 10 year follow-up. *Cancer* 1977; **40**: 1365-85.
46. Gaffey MJ, Millis SE, Frierson HF Jr et al. Medullary carcinoma of the breast: interobserver variability in histopathologic diagnosis. *Mod Pathol* 1995; **8**: 31-8.
47. Fisher ER, Palekar AS, Redmond C, Barton DB, Fisher B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (Protocol No.4): VI. invasive papillary cancer. *Am J Clin Pathol* 1980; **73**: 313-22.
48. Papotti M, Gugliotta P, Ghiringhello B, Bussolati G. Association of breast carcinoma and multiple intraductal papillomas. A histological and immunohistological investigation. *Histopathology* 1984; **8**: 963-75.
49. Rosen PP, Holmes G, Lesser ML, Kinne DW, Beattie EJ. Juvenile papillomatosis and breast carcinoma. *Cancer* 1985; **55**: 1345-52.
50. Ashikari R, Park K, Huvos AG, Urban JA. Paget's disease of the breast. *Cancer* 1970; **26**: 680-5.
51. Keelan PA, Myers JL, Wold LE, Katzmann JA, Gibney DJ. Phyllodes tumor: clinicopathologic review of 60 patients and flow cytometric analysis in 30 patients. *Hum Pathol* 1992; **23**: 1048-54.
52. Rosen PP, Kimmel M, Ernsberger D. Mammary angiosarcoma. The prognostic significance of tumor differentiation. *Cancer* 1988; **62**: 2145-51.
53. Lamovec J, Jančar J. Primary malignant lymphoma of the breast: lymphoma of the mucosa-associated lymphoid tissue. *Cancer* 1987; **60**: 3033-41.
54. Sharkey FE. Biological meaning of stage and grade in human breast cancer: review and hypothesis. *Breast Cancer Res Treat* 1982; **2**: 299-322.
55. Harris JR. Lippman ME, Veronesi U, Willett W. Medical progress: breast cancer (second of three parts). *N Engl J Med* 1992; **327**: 390-8.
56. Lippman ME. Oncogenes and breast cancer. *N Engl J Med* 1988; **319**: 1281-2.
57. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D et al. Isolation of BRCA1, the 17q-linked breast and ovarian cancer susceptibility gene. *Science* 1994; **266**: 66-71.

58. Wooster R, Neuhausen SL, Mangion Y et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science* 1994; 265: 2088-90.
59. Ponder B. Searches begin and end. *Nature* 1994; 371: 279.
60. Tsukamoto K, Ito N, Yoshimoto M, et al. Allelic loss on chromosome 1p is associated with progression and lymph node metastasis of primary breast carcinoma. *Cancer* 1998; 82: 17-22.
61. Hurliman J, Gebhard S, Gomez F. Oestrogen receptor, progesteron receptor, pS2, ERD5, HSP27, and cathepsin D in invasive ductal breast carcinomas. *Histopathology* 1993; 23: 239-8.
62. Snead DRJ, Bell JA, Diwon AR et al. Methodology of immunohistological detection of estrogen receptor in human breast carcinoma in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue: a comparison with frozen section methodology. *Histopathology* 1993; 23: 233-8.
63. Frierson HF Jr. Ploidy analysis and S-phase fraction determination by flow cytometry of invasive adenocarcinomas of the breast. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 358-67.
64. Čufer T. Vpliv lastnosti primarnega raka dojk na kraj in čas razvoja pri bolnicah z rakom dojk – stadij I in II. Diss. Ljubljana, 1995.