



SPOLEČNOST
ČESKÝCH PATOLOGŮ

Nádory plic

DOPORUČENÝ POSTUP PRO BIOPTICKÉ VYŠETŘENÍ

Radoslav Matěj, Pavel Dunder, Helena Hornychová,
Aleš Ryška, Ivana Tichá



Nádory plic

DOPORUČENÝ POSTUP PRO BIOPTICKÉ VYŠETŘENÍ

Radoslav Matěj, Pavel Dundr, Helena Hornychová, Aleš Ryška, Ivana Tichá

OBSAH

A. Úvod	F. Neuroendokrinní tumory plic	J. Nádory z bronchiálních žlázek
B. Cytologické vyšetření	G. Velkobuněčný karcinom a NSCLC NOS	K. Testování prediktivních markerů
C. Makroskopické vyšetření resekátu	H. Adenoskvamózní karcinom	Literatura
D. Dlaždicobuněčný karcinom	CH. Sarkomatoidní karcinom	
E. Adenokarcinom	I. Ostatní tumory	

A. Úvod

Jen málokterá oblast patologie prodělává v poslední době tak dynamický rozvoj jako klasifikace nádorů plic. Tyto změny jsou podmíněny rozšiřujícími se možnostmi morfologické diagnostiky podepřené zejména imunohistochemickými vyšetřeními a novými poznatky v oblasti molekulární patogeneze (úloha jednotlivých patogenních mutací vybraných genů ve vzniku a rozvoji nádorů). S tím úzce souvisí vývoj nových léčiv, která cílí na signální dráhy účastníci se karcinogeneze plicních nádorů a dávají potenciální šanci zlepšit prognózu jinak velmi obtížně léčitelných onemocnění. Podstatný je také prudký rozvoj terapie imunitními tzv. „check-point“ inhibitory.

Zpřesňování klasifikace zejména ve skupině tzv. nemalobuněčných karcinomů plic není jen záležitostí akademickou, nýbrž jde o naprosto zásadní předpoklad identifikace pacientů vhodných pro jednotlivé druhy protinádorové léčby.

Na významu nabývá jak zpřesňující se morfologické zařazení (některé typy léků jsou indikovány výhradně pro specifické subtypy karcinomů), tak molekulárně genetická subtypizace (identifikace aktivačních mutací genu *EGFR*, chromozomální přestavby zasahující gen *ALK* nebo *ROS1* a potenciálně dalších, navíc by se nově v souvislosti se selekcí pacientů vhodných pro terapii check-point inhibitory mělo v malých vzorcích automaticky provádět testování exprese PD-L1). Platí, že oba dva přístupy - tj. přesné morfologické zařazení nádoru i průkaz specifických molekulárních změn včetně imunohistochemické exprese prediktivních markerů - si navzájem nekonkurují, ale naopak se velmi vhodně doplňují.

Základem moderní diagnostiky nádorových lézí plic, podobně jako v jiných oblastech patologie, je úzká spolupráce multioborového týmu, která jediná vede k optimalizaci diagnostických a léčebných postupů ve prospěch pacientů postižených nádory s doposud tak špatnou prognózou.

Předložený materiál je v souladu s nejnovějšími poznatky, vychází z celosvětově platných postupů a klade si za cíl seznámit obec patologů s postupy, které vedou k optimální diagnostické výtěžnosti z často velmi limitovaného materiálu, ke sta-

novení správné a komplexní diagnózy odpovídající potřebám onkologa pro volbu adekvátní léčby jednotlivých pacientů.

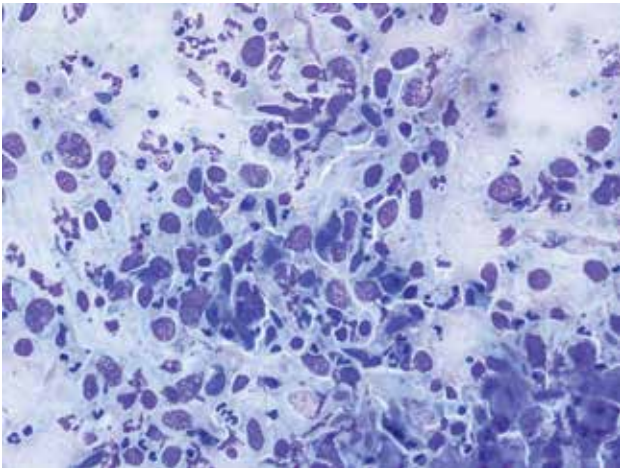
B. Cytologické vyšetření

Cytologie je dlouhodobě jednou ze základních morfologických metodik v diagnostice karcinomu plic. Dokud bylo dostačujícím kritériem rozdělení plicních karcinomů na malobuněčný karcinom a skupinu nemalobuněčných karcinomů, bylo to vyšetření naprosto plně vyhovující. Pokud je cytologické vyšetření doplněno **cytoblokem**, je dostačující pro diagnózu i v současnosti.

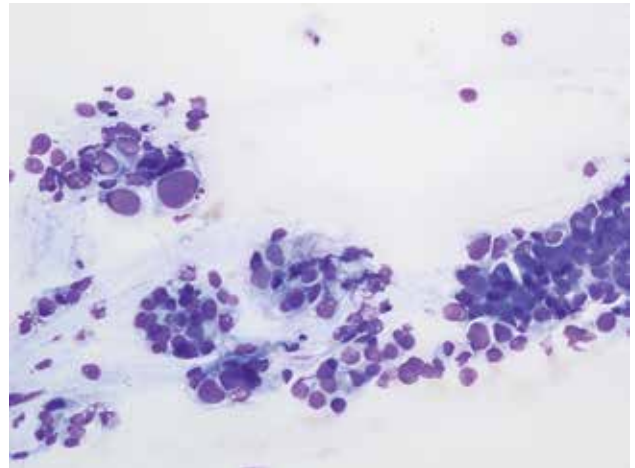
Cytoblok se zhotovuje fixováním části odebraného materiálu ve formalínu (například z kartáčkového stěru natřeme 2 skla na cytologii a zbytek materiálu z kartáčku vyklepeme v malém množství formalínu) a následným zpracováním podobně jako u biopsie do parafinového bloku, který pak lze využít pro další dodatečné metodiky, zejména imunohistochemii.

Diagnostiku je nutno provádět v úzké korelaci nálezu cytologického s nálezem v cytobloku – pokud je dobře diagnostický cytologický materiál (není pochybnosti o malignitě procesu) stačí k definitivnímu zařazení tumoru i poměrně malé množství struktur zachycených v imunohistochemickém vyšetření. Malé množství materiálu je ale také úskalím metodiky, vždy je třeba, abychom si byli jisti, že hodnotíme výsledky imunohistochemie na nádorových strukturách (např. p63 je pozitivní i na bazální vrstvě respiračního epitelu). Diagnostika se řídí stejnými pravidly jako v endobiopsiích a jiných malých vzorcích, z povahy vyšetření plyne, že tumory, které bychom z endobiopsie odečetli jako „dlaždicobuněčný karcinom“ nebo „adenokarcinom“ budeme častěji řadit do kategorií NSCLC „NSCLC spíše dlaždicobuněčný“ nebo „NSCLC spíše adenokarcinom“, tato drobná nepřesnost však nemá terapeutický význam.

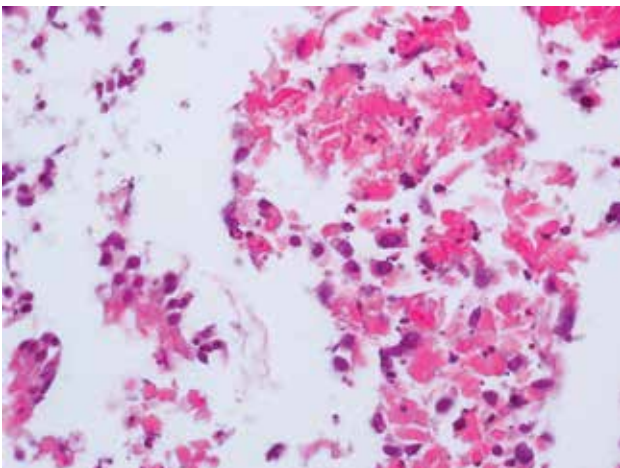
Materiál z cytologie (cytologický nátěr, cytoblok) lze použít pro molekulárně biologické analýzy. **Nátěr** (s označením partií s nádorovými strukturami patologem) lze s výhodou použít pro PCR metodiky pro stanovení mutačního stavu cílových oblastí vybraných genů. Pro imunohistochemii a *in situ* hybridi-



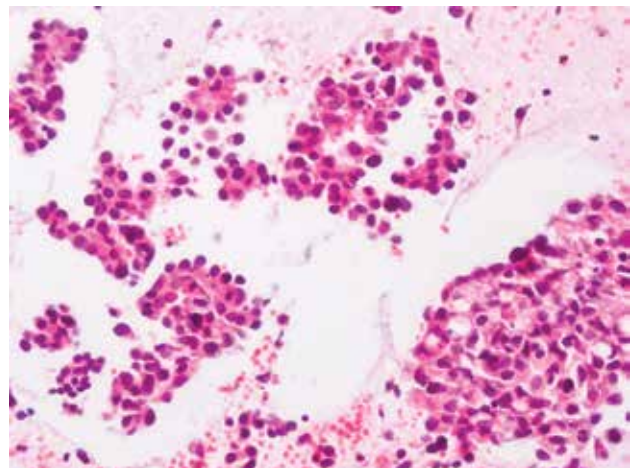
Obr. 1 Dlaždicobuněčný karcinom – cytologický nátěr barvený dle Giemsy. Nápadná je jaderná pleomorfie, některé nádorové elementy vykazují známky dlaždicové diferenciace.



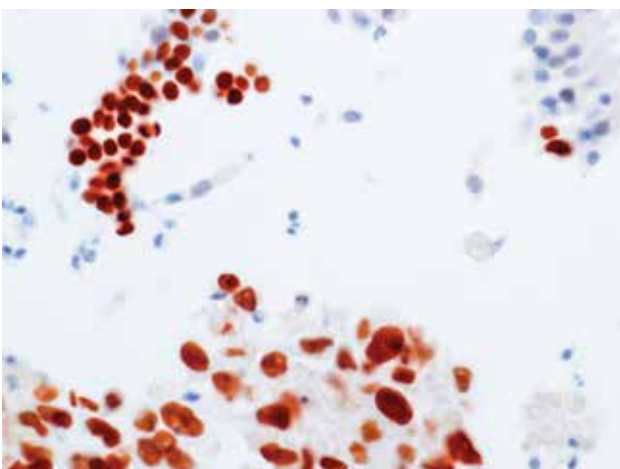
Obr. 4 Adenokarcinom – cytologický nátěr barvený dle Giemsy. Nádorové buňky vykazují výraznou anizokaryózu, jejich cytoplazma je poměrně bohatá, místy až s náznaky hlenotvorby.



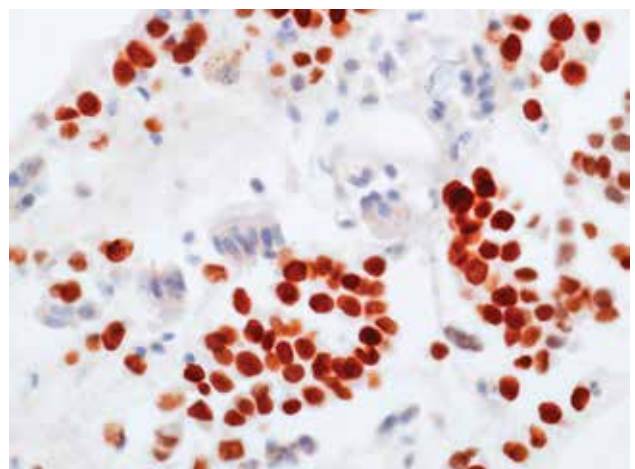
Obr. 2 Dlaždicobuněčný karcinom – cytoblok. Kromě respiračních epitelů (vlevo) jsou patrné četné (zčásti nekrotizující) nádorové elementy.



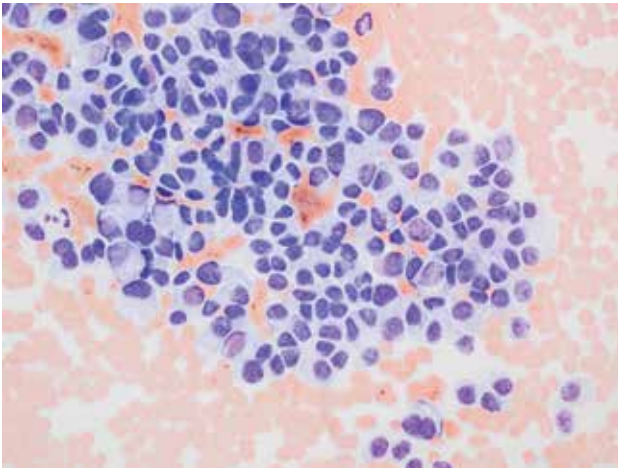
Obr. 5 Adenokarcinom – cytoblok. Mikropapilárně uspořádané trsy nádorových buněk, ložiskově jsou patrné intracytoplasmatické vakuoly.



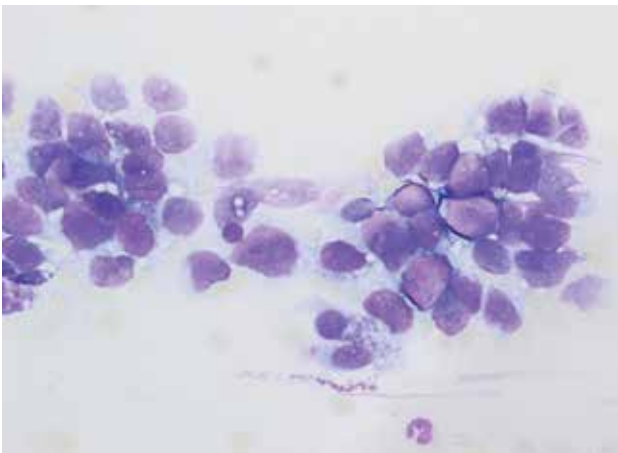
Obr. 3 Dlaždicobuněčný karcinom – cytoblok s imunohistochemickým průkazem p63. Kromě nádorových elementů (dole) jsou pozitivní i bazální buňky respiračního epitelu (vlevo nahoře).



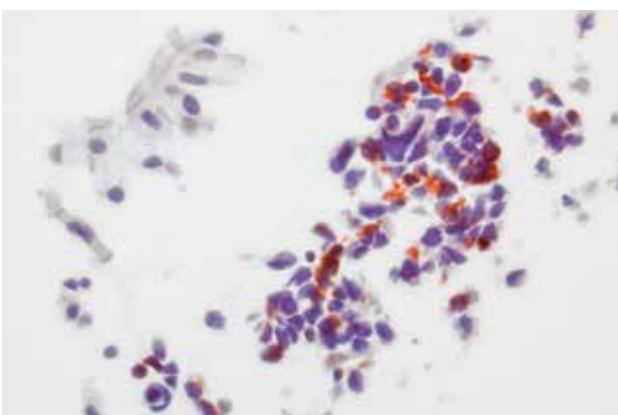
Obr. 6 Adenokarcinom – cytoblok s imunocytochemickým průkazem TTF-1.



Obr. 7 Low-grade neuroendokrinní tumor – cytologický nátěr barvený dle Giemsy. Buňky mají středně anizomorfní jádra s typickou chromatinovou strukturou, cytoplazma je poměrně bohatá, často excentricky uložena.



Obr. 8 High-grade neuroendokrinní tumor – malobuněčný karcinom. Jádra jsou poměrně drobná (ač se jeví poněkud větší než v histologii), s velmi jemným chromatinem, buňky jsou málo kohezivní a mají zcela nezřetelný cytoplazmatický lem.



Obr. 9 Malobuněčný karcinom – cytoblok s imunohistochemickým průkazem synaptofyzinu. I přes výrazné mechanické zhmoždění nádorových buněk lze s pomocí průkazu neuroendokrinních markerů dojít ke správné diagnóze. Pro srovnání jsou v levé polovině normální respirační epitelie.

začnící metodiky lze užít cytoblok, zde může být limitující malé množství zachycených struktur (nedostatečný počet buněk na hodnocení). V cytologickém nátěru by se z definice metodiky nemělo hodnotit PD-L1. Pokud bychom měli v cytobloku v dostatečném množství větší tkáňové fragmenty, aby bylo hodnotitelných alespoň 100 buněk, pak asi hodnocení s jistou limitací možné je (nesmí se hodnotit volně plovoucí buňky, které mohou mít pozitivitu arteficiálně).

Bioptické a cytologické vzorky ze stejné léze by optimálně měly být vyšetřovány společně, což může napomoci co nejpřesnější diagnóze a výrazně zvyšuje diagnostickou výtěžnost. Důležité je, aby z veškerého cytologického materiálu včetně pleurálních punkcí byly vždy, kdy to je možné, připraveny cytobloky.

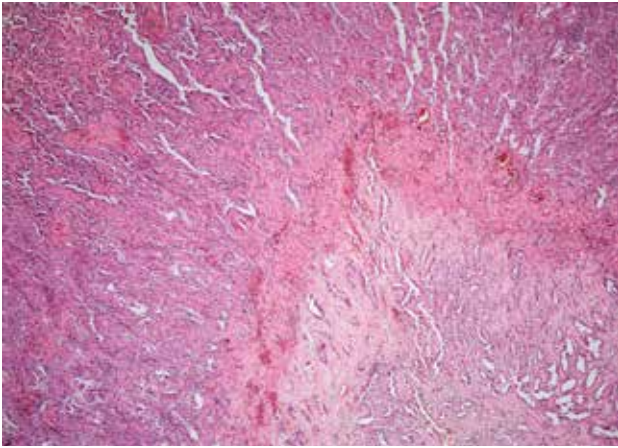
C. Makroskopické vyšetření resektátu

Makroskopický popis resekční biopsie plic:

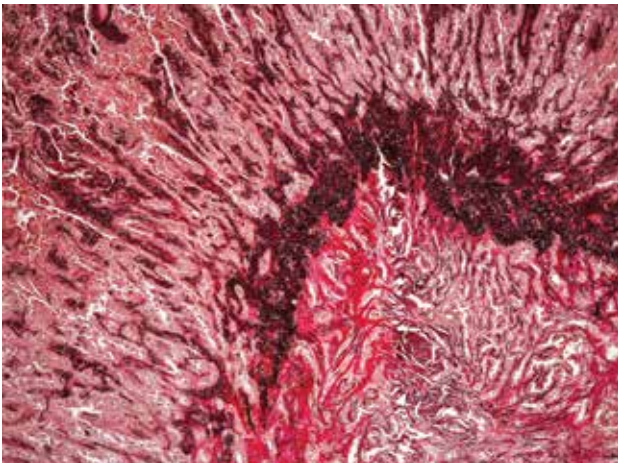
- 1. Typ resektátu** (resekce bronchu, klínovitá resekce, segmentektomie, lobektomie, bilobektomie, pulmonektomie, jiné - specifikuj).
- 2. Rozměry vzorku, případně hmotnost.**
- 3. Cílený popis změn**
 - celistvost resektátu (bez poškození, zhmožděný, rozdělený)
 - pleura (retrakce, zbarvení, ložiskové změny, adheze)
 - resekční linie (bronchus, parenchym)
 - nádorové ložisko (lokalizace, počet, rozměry a charakter)
 - jiné ložiskové změny parenchymu (lokalizace, rozměry a charakter)
 - charakter parenchymu mimo oblast ložiskových změn
 - lymfatické uzliny (počet, lokalizace, velikost, makroskopické změny)

Nález musí obsahovat závěr, kde jsou specifikované:

- 1. histologický typ nádoru vyjádřený kódem ICD**
 - v případě adenokarcinomu i subtypizaci jednotlivých složek a jejich procentuální zastížení
 - průkaz, že se jedná o primární plicní adenokarcinom (TTF-1, napsin A)
 - 2. grade (1-3)**
 - 3. stage vyjádřený pTNM kategorií**
- V kategorii T je vhodné blíže upřesnit**
- postižení viscerální pleury (PL), při nejednoznačnosti vztahu ze standardního barvení je třeba provést histochemický průkaz celistvosti elastických vláken
 - největší rozměr nádoru
 - postižení hlavního bronchu
 - šíření nádoru na okolní struktury - postižení kariny, parietální pleury, stěny hrudní, bránice, mediastinální pleury, nervus phrenicus, srdce, velkých cév, trachey, páteře, případně jiných struktur
- V kategorii N je vhodné blíže upřesnit**
- celkový počet vyšetřených/ počet postižených (největší rozměr metastázy)
 - lokalizace



Obr. 10 – Invaze adenokarcinomu do pleury. Ta je ve standardním barvení ne zcela optimálně viditelná.



Obr. 11 – V barvení van Gieson/elastika je situace výrazně přehlednější.

V kategorii M je vhodné blíže upřesnit

- počet metastatických ložisek a jejich rozměry
 - lokalizaci
 - je nutné co možná nejdrobněji odlišit histomologní metastázu od simultánní nádorové duplicity (histomorfologie, imunohistochemický profil...)
4. **resekční okraje** (pokud je okraj mikroskopicky bez postižení nádorem, nutno uvést vzdálenost nádoru od okraje)
 5. **angioinvaze** (lymfatické či krevní cévy)
 6. **změny po terapii (byla-li)** vyjádřenou procentuálně rozsahem regresivních změn

Poznámky:

Lymfatické uzliny:

- 1) extranodální šíření může představovat prognosticky nepříznivý faktor, avšak nemění pN
- 2) zejména při mediastinoskopickém zákroku mohou být uzliny fragmentované a přesný počet nelze stanovit – v této situaci se pouze popíše oblast odběru, udá počet jednoznačně identifikovaných uzlin a k celkovému počtu uzlin/počtu postižených se nelze vyjádřit

- 3) extrapulmonální uzliny by měly být dodány v oddělených popsaných nádobách s označením lokality odběru, při hodnocení metastaticky postižených uzlin je třeba se vyjadřovat ke kompletnosti jejich odstranění

Anatomická klasifikace – lokality LU (značeno číslem a dle laterality písmenem L nebo R)

Supraklavikulární zóna:

1. dolní cervikální, supraklavikulární, sternální

Horní mediastinální uzliny:

2. horní paratracheální
3. prevaskulární (3A) a retrotracheální (3P)
4. dolní paratracheální

Aortální uzliny:

5. subaortální (uzliny laterálně od ligamentum arteriosum)
6. paraaortální

Dolní mediastinální uzliny:

7. subkarinální
8. paraezofageální
9. ligamentum pulmonale

N1 uzliny:

10. hilové
11. interlobární (mezi odstupy lobárních bronchů)
12. lobární (přilehlé k lobárním bronchům)
13. segmentální (přilehlé k segmentálním bronchům)
14. subsegmentální (v okolí subsegmentálních bronchů)

Metastatické postižení:

Ložisko identického nádoru ve stejném laloku spadá do kategorie pT3

Ložisko identického nádoru v jiném laloku ipsilaterální plicce spadá do kategorie pT4

Ložisko identického nádoru v laloku kontralaterální plicce spadá do kategorie pM1a

Nádorové postižení pleury (nebo perikardu) mimo hlavní nádorové ložisko spadá do kategorie pM1a

D. Dlaždicobuněčný karcinom

Většina dlaždicobuněčných karcinomů vzniká centrálně. Jejich prekurzorovou lézí je dysplázie metaplastického dlaždicového epitelu (dělení na jednotlivé stupně ekvivalentní CIN se povětšinou rutinně neprovádí) a dlaždicobuněčný karcinom in situ. Přítomnost těchto změn, zejména těžké dysplázie, ve vzorku či materiálu z resekčního okraje, je třeba uvádět ve výsledkovém závěru bioptického protokolu. Význam gradingu u invazivního karcinomu je sporný a nemá zatím prokázaný prognostický dopad.

Diagnóza dlaždicobuněčného karcinomu je založena na přítomnosti mezibuněčných můstků a/nebo keratinizaci. Fokální intracytoplazmatický výskyt mukosubstancí není v rozporu s diagnózou, vyžaduje však imunohistochemické vyšetření k vyloučení jiných diferenciatně diagnostických možností, zejména solidního adenokarcinomu či mukoepidermoidního karcinomu.

V malých vzorcích při jednoznačné dlaždicové morfologii klasifikujeme jako dlaždicobuněčný karcinom bez nutnosti doplňování imunohistochemické typizace. U nádorů bez jednoznačných diagnostických znaků dlaždicobuněč-

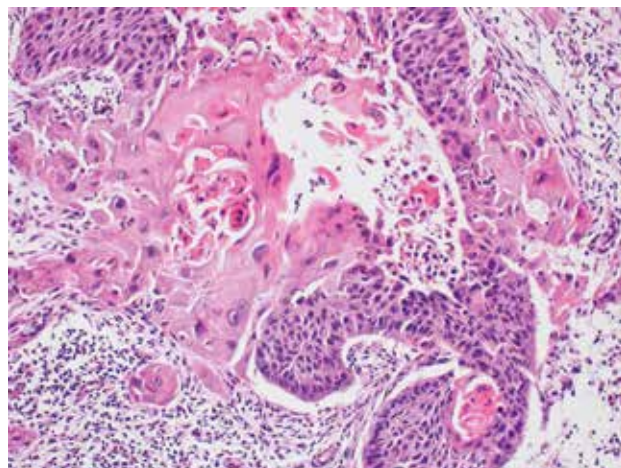
ného karcinomu, avšak suspektních z tohoto typu nádoru včetně odpovídajících výsledků imunohistochemických vyšetření (CK5/6+, p63+, p40+, TTF-1-), se nádor diagnostikuje jako **nemalobuněčný karcinom, spíše dlaždicobuněčný**.

Vzorky s NSCLC je třeba v maximální míře šetřit pro potenciální molekulárně biologická vyšetření, nicméně diagnóza NSCLC bez bližší specifikace je nedostatečná a jednotlivé subtypy musí být dotypizovány užitím speciálních metod. Jedinou výjimkou jsou nepochybné morfologické známky dlaždicobuněčné diferenciace (přesvědčivé rohovění či zřetelné „můstky“). I zde se však doporučuje dlaždicobuněčnou diferenciaci potvrdit imunohistochemicky.

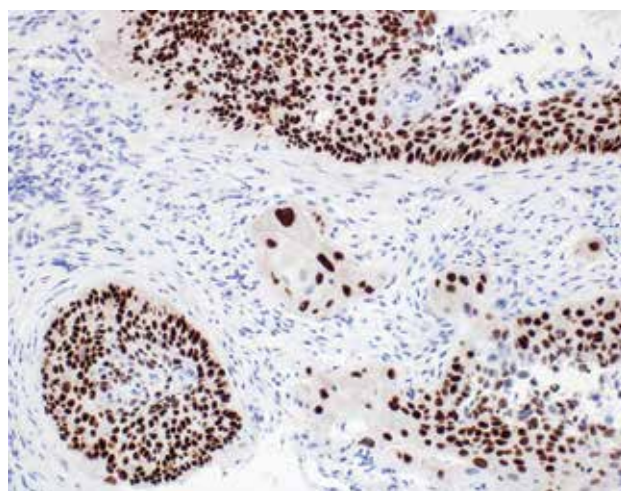
V **resektátu** je obvykle diagnóza bezproblémová. Definované histologické varianty zahrnují papilární, světlobuněčný, malobuněčný, nicméně jejich rozlišování je dle WHO nedoporučováno vzhledem k tomu, že nejsou dostatečně validní data ohledně významu vztahu subtypu k prognóze. Jedinou výjimku tvoří bazaloidní subtyp dlaždicobuněčného karcinomu, který reprezentuje samostatnou entitu (s vlastním ICD-O kódem M-8083/3) s velmi špatnou prognózou. Varianty v čisté formě jsou vzácné, obvykle obsahují oblasti typického dlaždicobuněčného karcinomu.

Imunohistochemický profil: dlaždicobuněčný karcinom exprimuje různé typy cytokeratinů (CK) včetně cytokeratinu 5/6. Většina případů je difúzně pozitivní při průkazu p63 a p40. Exprese p40 se zdá být při rozlišení dlaždicobuněčného karcinomu a adenokarcinomu velmi specifická (adenokarcinomy jsou negativní). Oproti tomu pozitivita p63 se vyskytuje u 20-30 % adenokarcinomů, je však téměř vždy pouze slabá a/nebo fokální. Pozitivita TTF-1 je u dlaždicobuněčných karcinomů vzácná (vyskytuje se spíše při použití primární protilátky klonu SPT24) a obvykle pouze fokální, na rozdíl od silné difúzní jaderné exprese u 75-85 % plicních adenokarcinomů. Až 30 % dlaždicobuněčných karcinomů může exprimovat synaptofyzin, chromogranin A a CD56. Exprese těchto markerů však nemění v případě jasné dlaždicobuněčné diferenciace diagnózu, nemá praktický význam, a proto není u případů bez zjevné neuroendokrinní morfologie jejich vyšetřování doporučováno. Při pozitivitě neuroendokrinních (NE) markerů je nutno rovněž vyloučit (průkazem CD5 a CD117) možnost metastázy dlaždicobuněčného karcinomu thymu, u kterého bývá koexprese dlaždicobuněčných a NE markerů pravidlem. Také exprese CK7 se vyskytuje u dlaždicobuněčných karcinomů (s jinak typickou difúzní silnou pozitivitou p63) poměrně často. Obvykle je dlaždicobuněčný karcinom pozitivní také při průkazu CEA a B72.3, tyto markery však nemají větší diferenciálně diagnostický význam.

Je třeba rovněž upozornit, že u dlaždicobuněčného karcinomu není možné na základě morfologie či imunofenotypu odlišit primární plicní tumor od sekundárního metastatického postižení. Např. exprese p16, charakteristicky se vyskytující u karcinomů děložního čípku či hlavy a krku, je prokazatelná až u 50 % primárních dlaždicobuněčných karcinomů plic.



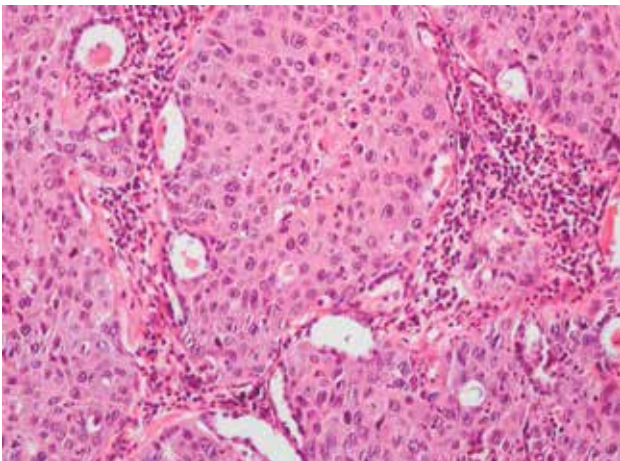
Obr. 12 Dlaždicobuněčný karcinom s rohověním. U takto morfologicky evidentních případů není třeba provádět imunohistochemický průkaz dlaždicových markerů



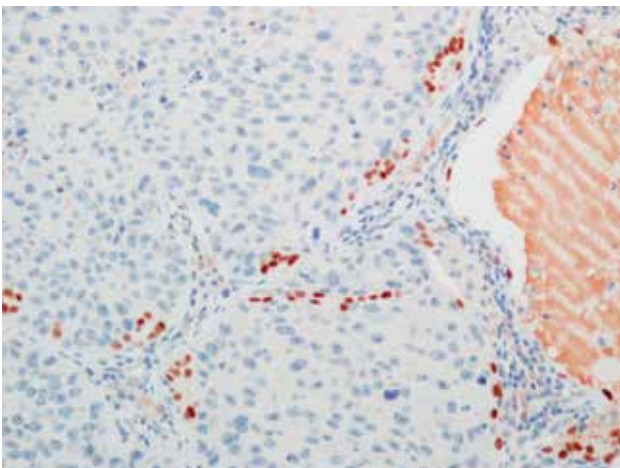
Obr. 13 Jaderná pozitivita p63 v elementech dlaždicobuněčného karcinomu

E. Adenokarcinom

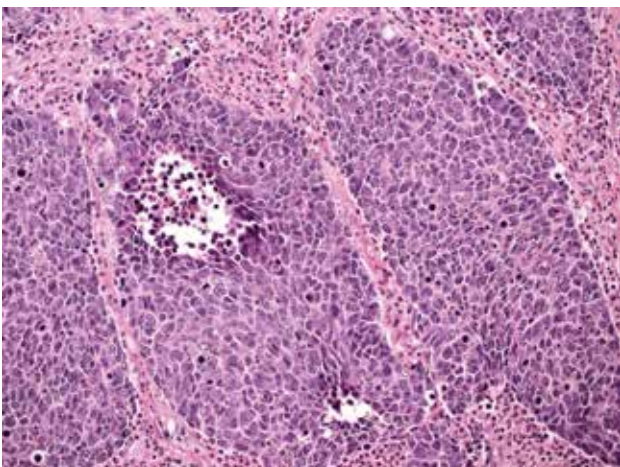
Prekurzorovou lézí adenokarcinomu je **atypická adenomatoidní hyperplázie (AAH)**. Může se vyskytovat multifokálně a bývá tak prekurzorem vícečetného metachronního/synchronního postižení plicního parenchymu. Rovněž bývá přítomná v okolním plicním parenchymu při resekcích výkonech pro invazivní karcinom. Podle doporučení IASLC (*International Association for the Study of Lung Cancer*), ATS (*American Thoracic Society*) a ERS (*European Respiratory Society*) byly zavedeny termíny **AIS (adenokarcinom in situ)** a **MIA (minimálně invazivní adenokarcinom)** definované svými vlastnostmi a rozměry (viz tabulka), tyto termíny byly následně převzaty do WHO klasifikace plicních adenokarcinomů z roku 2015. Tyto jednotky by se neměly používat u malých biopsií nebo v cytologických vzorcích. Vyloučení invazivního růstu či stanovení minimální invaze je možné pouze po extenzivním vyšetření kompletní léze v resekováném materiálu. Pokud je nein-



Obr. 14 Solidně uspořádaný nízce diferencovaný dlaždicobuněčný karcinom se zavzatými původními epitelii napodobujícími tvorbu žlázových lumin. U takových případů hrozí nesprávná diagnóza adenoskvamózního karcinomu



Obr. 15 Stejný případ s demonstrací TTF-1 v původních epitelích. Ve srovnání s negativními nádorovými elementy je zřetelně vidět na-prosto blandní vzhled nenádorových TTF-1 pozitivních buněk



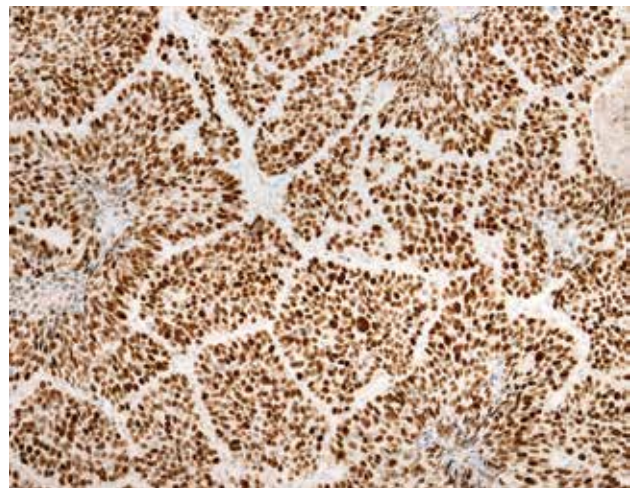
Obr. 16 Bazaloidní subtyp dlaždicového karcinomu vykazuje vysokou mitotickou aktivitu bazaloidně vyhlížejících nádorových buněk

vazivní typ nádoru přítomen v malé biopsii, je třeba jej označit jako karcinom s lepidickým typem růstu bez další specifikace ohledně invazivního růstu. Adenokarcinomy dříve klasifikované jako mucinózní bronchioloalveolární karcinom (BAC) by měly být odděleny od adenokarcinomů dříve klasifikovaných jako nemucinózní BAC a v závislosti na velikosti nádoru a rozsahu lepidického nebo invazivního růstu by měly být nadále klasifikovány jako „mucinózní adenokarcinom in situ“ nebo „invazivní mucinózní adenokarcinom“.

Grading adenokarcinomů je třístupňový (G I-III) a odráží prognózu nádorů, vedle stupně diferenciace však významnou roli hraje také zastoupení histologických subtypů nádoru.

Diagnóza plicního adenokarcinomu se opírá o rozpoznání žlázové diferenciace, která však mnohdy při solidním typu růstu bývá ze standardního barvení hematoxylinem a eosinem nemožná. Napomůže průkaz hlenu histochemicky, rozhodující je však imunohistochemická subtypizace umožňující odlišení od dlaždicobuněčného karcinomu či metastatického postižení. Pro odlišení adenokarcinomu a skvamocelulárního karcinomu si každé pracoviště zvolí vlastní panel markerů. Nejčastěji používanými markery adenokarcinomu jsou: histochemický průkaz hlenotvorby užitím alciánové modři, imunohistochemické reakce s protilátkami proti TTF-1, napsinu A, surfaktantovému proteinu, cytokeratinu 7. Nejčastěji používanými markery dlaždicobuněčné diferenciace jsou: imunohistochemické reakce s protilátkami proti p63, p40, cytokeratinu 5/6 a 10 či desmogleinu 3. Z literatury plyne, že optimální výtěžnost odlišení adenokarcinomu a dlaždicobuněčného karcinomu při maximální úspoře tkáně je dosažena aplikací protilátek proti TTF-1 a p40, kdy užití ostatních metodik je nutné jen v případě nejasného výsledku těchto dvou barvení.

V malých vzorcích bez jednoznačných diagnostických znaků adenokarcinomu, avšak suspektních z tohoto typu nádoru včetně odpovídajících výsledků imunohistochemických vyšetření (CK5/6-, p63-, p40-, TTF-1+, CK7+, napsin A+) se nádor diagnostikuje jako **nemalobuněčný karcinom, spíše adenokarcinom**.



Obr. 17 Jaderná pozitivita p63 v elementech bazaloidního subtypu dlaždicobuněčného karcinomu

Praktická doporučení pro správné nakládání s malými bi-optickými vzorky

NSCLC je potřeba dělit na konkrétní typ (adenokarcinom či dlaždicobuněčný karcinom), kdykoli je to možné.

Termín NSCLC-NOS by měl být vyhrazen pouze pro nádory, kdy není možné stanovit přesnější diagnózu ze základní morfologie ani s pomocí imunohistochemických metod.

Pokud je diagnóza stanovena z malé biopsie a/nebo z cytologie, měla by být součástí výsledkového protokolu informace, zda byla finální diagnóza stanovena ze základního barvení, nebo zda byly použité speciální metody.

V resekátu je více než 90 % plicních adenokarcinomů tvořeno komplexní heterogenní směsí jednotlivých prognosticky odlišných subtypů. Proto je doporučeno provádět semikvantitativní hodnocení různých histologických vzorců s procentuálním vyjádřením u všech komponent, které v jednotlivém nádoru převyšují 5% podíl: acinární, papilární, mikropapilární, lepidická, koloidní, mucinózní, fetální, enterická a solidní. Nádor je klasifikován podle převládajícího histologického subtypu, ostatní komponenty jsou zmíněny v rámci popisu. Zvláště některé histologické subtypy jsou výrazně prognosticky nepříznivé (solidní a zejména mikropapilární) a jejich přítomnost proto musí být zdůrazněna i pokud tvoří minoritní komponentu (grade III).

U pacientů s vícečetnými ložisky plicních adenokarcinomů může subtypizace pomoci odlišit histohomologní metastázy od synchronních nebo metachronních primárních tumorů.

Imunohistochemický profil: adenokarcinom exprimuje různé typy cytokeratinů včetně cytokeratinu 7. Většina případů vykazuje jadernou pozitivitu markeru TTF-1, její negativita však primární plicní původ nevylučuje (cca 10-15 % případů). Dalšími markery, které se používají

pro stanovování primárního plicního původu, jsou napsin A či surfaktantový protein. V tomto kontextu je vhodné upozornit, že mucinózní adenokarcinom je často TTF-1 i napsin A negativní. Jaderná pozitivita p63 různé intenzity se vyskytuje u 20-30 % adenokarcinomů, je však téměř vždy pouze slabá a/nebo fokální (a často nebývá doprovázena pozitivitou p40). Cytoplazmatická pozitivita p63 podle některých literárních pramenů odpovídá lepší prognóze nádorů. Více než 30 % adenokarcinomů může exprimovat markery neuroendokrinní diferenciace (synaptofyzin, chromogranin A, NSE, CD56 či CD57). Expres těchto markerů však nemění diagnózu, nemá praktický význam, a proto není u případů bez zjevné neuroendokrinní morfologie jejich vyšetřování doporučováno.

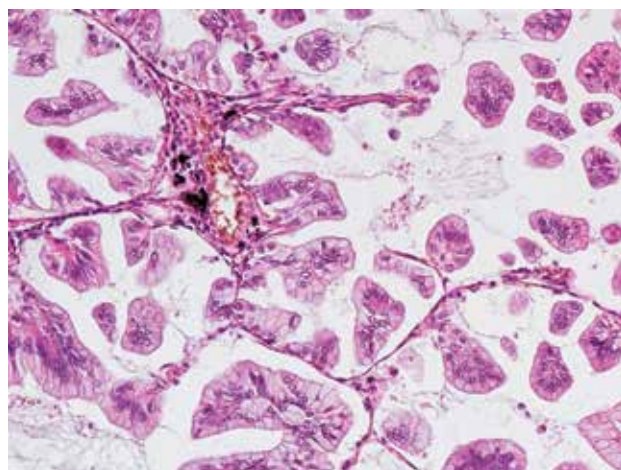
Zcela zásadním je rovněž odlišení primárního plicního původu adenokarcinomu od **metastatického postižení** plicního parenchymu. V případě exprese markeru TTF-1 je třeba vyloučit postižení metastázou diferencovaného karcinomu štítné žlázy (a vzácněji i z jiného primárního zdroje). Metastatické postižení z jiného primárního zdroje je nutno vyloučit cílenou imunohistochemickou detekcí markerů specifických pro jednotlivé tkáně - adenokarcinomy zažívacího traktu pomůže odlišit exprese CDX2 či různých typů antigenů MUC, metastázy adenokarcinomu prostaty odliší NKX3.1, PSA či PSMA, metastázy karcinomu prsu exprese GATA-3, mammaglobinu či hormonálních receptorů (estrogenových a progesteronových), tumory ženského genitálního traktu nebo ledviny exprese PAX8. Je třeba mít na paměti, že pozitivita jednotlivých markerů není nikdy 100% senzitivní ani specifická a je třeba provést současnou detekci více markerů. Kompletní diferenciálně diagnostické schéma pro všechny adenokarcinomy, které mohou do plic metastazovat, je daleko nad rámec tohoto textu. S ohledem na potřebu šetření tkáně na prediktivní vyšetření je však zásadní racionální indikace imunohistochemických vyšetření a úzká klinicko-patologická spolupráce. Diagnostické algoritmy by měly být nastaveny tak, aby extenzivní imunohistochemické vyšetřování nevedlo k vykrájení nádorové tkáně a neznemožnilo tím prediktivní testování.

Tab. 1: Odlišnosti v terminologii hodnocení plicních adenokarcinomů v malých vzorcích a v resekátech v rámci platné WHO klasifikace nádorů z roku 2015.

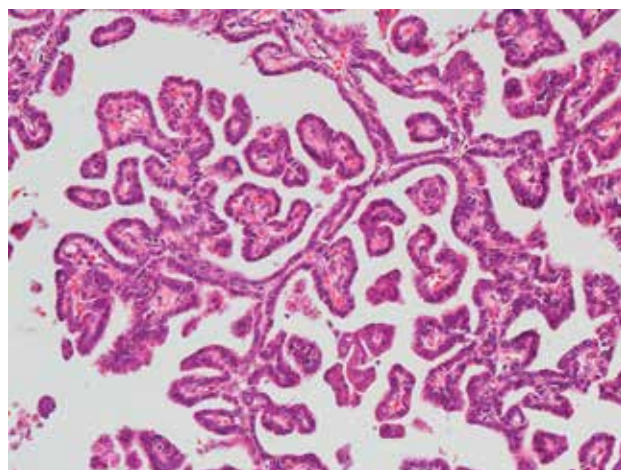
Terminologie v malých biopsiích	Terminologie v resekátech
Adenokarcinom (popsat přítomné histologické subtypy, lze-li)	Adenokarcinom (predominantní subtyp) Lepidický, acinární, papilární, solidní, mikropapilární, kribriformní
Adenokarcinom s lepidickým typem růstu	Minimálně invazivní adenokarcinom, adenokarcinom in situ nebo invazivní karcinom s lepidickou komponentou
Nemalobuněčný karcinom (NSCLC), spíše adenokarcinom	Adenokarcinom (solidní subtyp)
Adenokarcinom s koloidními rysy	Koloidní adenokarcinom
Adenokarcinom s fetálními rysy	Fetální adenokarcinom
Adenokarcinom s enterickými rysy	Enterický adenokarcinom
Dlaždicobuněčný karcinom	Dlaždicobuněčný karcinom
Nemalobuněčný karcinom (NSCLC), spíše dlaždicobuněčný karcinom	Dlaždicobuněčný karcinom
Nemalobuněčný karcinom (NSCLC), blíže nespecifikovaný (NOS)	Velkobuněčný karcinom v případě, že nelze dotypizovat

Tab. 2: Klasifikace plicních adenokarcinomů ve vzorcích plicních resektátů

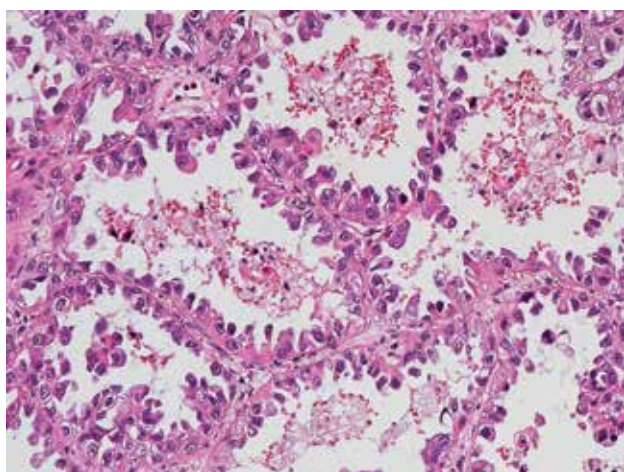
PREINVAZIVNÍ LÉZE
Atypická adenomatoidní hyperplázie
Adenocarcinom in situ (≤3 cm, dříve BAC)
<i>Nemucinózní</i>
<i>Mucinózní</i>
<i>Smíšený mucinózní /nemucinózní</i>
MINIMÁLNĚ INVAZIVNÍ KARCINOM (≤ 3cm, predominantně lepidický způsob růstu s ≤ 5 mm invazí)
<i>Nemucinózní</i>
<i>Mucinózní</i>
<i>Smíšené mucinózní/nemucinózní</i>
INVAZIVNÍ ADENOKARCINOMY
<i>Predominantně lepidický způsob růstu (dříve nemucinózní BAC, s invazí >5mm)</i>
<i>Predominantně acinární</i>
<i>Predominantně papilární</i>
<i>Predominantně mikropapilární</i>
<i>Predominantně solidní s hlenotvorbou</i>
Variety invazivního adenokarcinomu
Invazivní mucinózní adenokarcinom (původně mucinózní varianta BAC)
Koloidní
Fetální (low a high grade)
Enterický



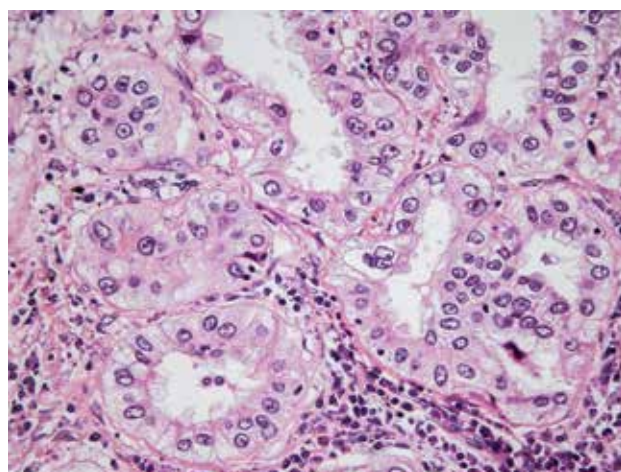
Obr. 19 Adenokarcinom s lepidickým typem růstu – mucinózní typ.



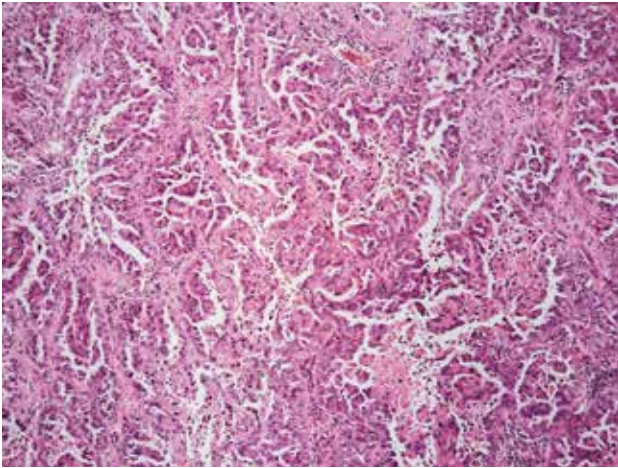
Obr. 20 Adenokarcinom s papilárním typem růstu. V centru papil je patrné fibrovaskulární stroma.



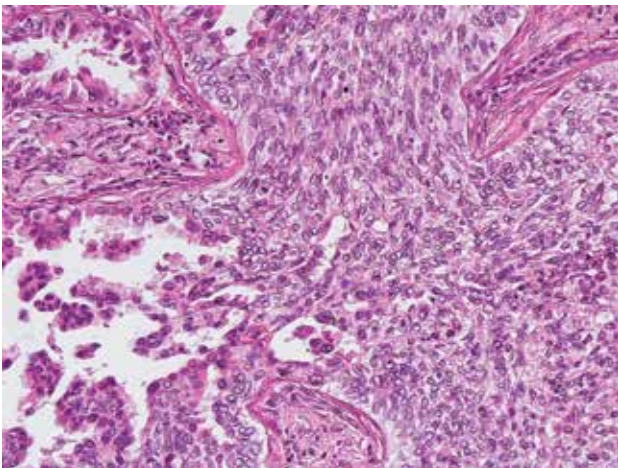
Obr. 18 Adenokarcinom – lepidický typ růstu s nádorovými elementy lemujícími alveolární septa.



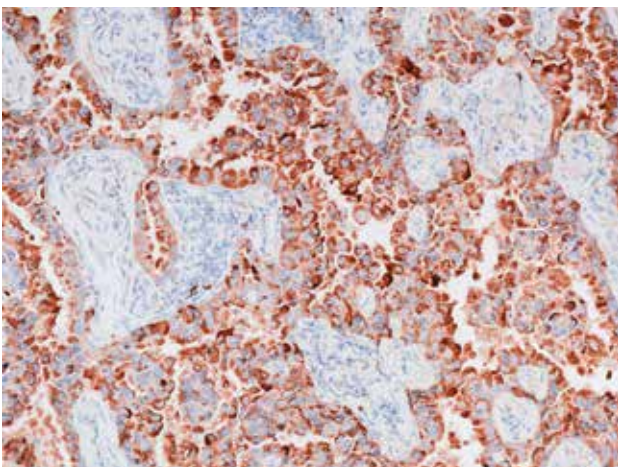
Obr. 21 Adenokarcinom s acinárním uspořádáním. Nádorové tubuly na sebe těsně naléhají.



Obr. 22 Adenokarcinom s mikropapilárním typem růstu. Na rozdíl od papilárně rostoucího karcinomu zde chybí stroma v centru papil. Tento typ růstu je výrazně prognosticky nepříznivý (grade III).



Obr. 23 Ve většině případů adenokarcinomu je zastoupeno několik různých typů uspořádání – zde mikropapilární (vlevo) a solidní (vpravo).



Obr. 24 Průkaz exprese napsinu A v adenokarcinomu – silná disperzní cytoplazmatická pozitivita v nádorových buňkách.

F. Neuroendokrinní tumory plic

Všechny neuroendokrinní (NE) nádory plic jsou maligní. Řadíme sem **typický karcinoid (TC)**, **atypický karcinoid (AC)**, **malobuněčný karcinom (SCLC)** a **velkobuněčný neuroendokrinní karcinom (LCNEC)**. Diagnóza NE nádoru je založena na průkazu NE morfolgie, tj. tvorbě rozet, trabekul, palisádování, krajkovitým a organoidním uspořádání buněk, charakter chromatinu („pepř a sůl“) ve světelné mikroskopii. Hlavními znaky, které odliší jednotlivé nádorové typy, jsou počet mitóz a přítomnost či nepřítomnost nekrotizace, v případě LCNEC pak také charakter nádorových buněk. Imunohistochemie není zcela nezbytná, opět s výjimkou LCNEC, běžně je však prováděna jako doplňkové vyšetření. Důležitost imunohistochemického vyšetření významně stoupá u malých vzorků. V současnosti je tendence odlišovat vysoce maligní (**high grade**) NEC, kam spadá malobuněčný a velkobuněčný NEC a na níže maligní (**low grade**) NEC s významně lepší prognózou, kam patří karcinoid a atypický karcinoid.

Tab. 3: Dělení neuroendokrinních nádorů plic.

DIPNECH (difúzní idiopatická hyperplázie plicních neuroendokrinních buněk)
Hyperplázie neuroendokrinních buněk v epitelu bronchiolů
Tumorlet
Nádory s neuroendokrinní morfolgií
Typický karcinoid (NEC grade I – low grade)
Atypický karcinoid (NEC grade II – low grade)
Malobuněčný karcinom (NEC grade III – high grade)
Velkobuněčný karcinom (NEC grade III – high grade)
Nemalobuněčné karcinomy s neuroendokrinní expresí
Jiné tumory s neuroendokrinními znaky
Pulmonální blastom
Primitivní neuroendokrinní tumor
Desmoplastický kulatobuněčný tumor
Karcinom s rabdoidním fenotypem
Paragangliom

Prekurzorovou lézí je hyperplázie neuroendokrinních buněk a tumorlet, které se od typického karcinoidu liší velikostí (hyperplázie do 2 mm, tumorlet 2 – 5 mm). Jde o poměrně běžný nález u chronických plicních onemocnění (např. bronchiektazií). V rámci difúzní hyperplázie plicních neuroendokrinních buněk (DIPNECH) mohou vznikat vícečetné karcinoidy (pokud splňují diagnostická kritéria pro typický karcinoid, nemají být brány jako metastázy).

Typický karcinoid (TC) je níže maligní tumor (NEC grade I). Lokalizován je převážně ve velkých dýchacích cestách, méně na periférii.

Diagnóza je založena na NE morfologii, doplněna o imunohistochemický průkaz neuroendokrinní diferenciace (chromogranin A, synaptofyzin, CD56). Mitotická aktivita nepřekračuje 2 mitózy/10HPF (2mm²). Nesmí být přítomny nekrózy, jaderná polymorfie naopak nehraje roli.

V malých vzorcích je NE architektura karcinoidu dobře patrná, posouzení mitotické aktivity závisí na velikosti materiálu. Při velikosti menší než 2mm² a/nebo četných odběrových artefaktech lze stanovit dg. neuroendokrinního tumoru, nejspíše karcinoidu, bez rozlišení na typický či atypický. V rozhodování pomůže proliferační aktivita (Ki-67), která u TC nepřesahuje 5 %. Z NE markerů je u TC nejčastější pozitivita chromograninu A. Výjimečně, např. u transthorakální biopsie, není možné odlišit tumorlet, výsledek je nutno korelovat s klinickým nálezem (např. CT vyšetřením), toto je třeba zmínit v závěru. Malobuněčný karcinom odliší vysoký počet mitóz, přítomnost nekroz a velmi vysoká proliferační aktivita, která bývá nad 50 %. Velkobuněčný karcinom může mít také morfologii podobnou karcinoidu, zásadní je opět mitotická aktivita a přítomnost nekroz.

V resekátu je obvykle diagnóza bezproblémová. Výjimečně mohou činit obtíže zvláštní histologické typy karcinoidu s onkocytárním, vřetenobuněčným, světlobuněčným, papilárním a pseudoglandulárním vzhledem a/nebo produkcí melaninu. Správné zařazení umožní imunohistochemický průkaz NE markerů a cytokeratinu. U 20 % karcinoidů může být cytokeratin negativní (!) – v případě negativity CK je vhodné vyšetřit další epiteliální markery (např. EMA, Ber-EP4) k odlišení od paragangliomu. Expres TTF-1 je variabilní, nemůže sloužit jako jednoznačný průkaz plicního původu nádoru (může být pozitivní v NE nádorech jakékoliv primární lokality). S-100 protein může být exprimován v buňkách sustentakulárního typu (tzv. ganglionický karcinoid). Typický karcinoid může mít metastázu v uzlině – dg. kritériem TC je mitotická aktivita a nepřítomnost nekroz – přítomnost uzlinových metastáz neznamená automaticky diagnózu atypického karcinoidu.

Atypický karcinoid (AC) je nádor středního stupně malignity (NEC grade II). Lokalizace je obdobná jako u typického karcinoidu, ačkoli některé práce udávají vyšší zastoupení periferních lézí.

Diagnóza je založena na stejných principech jako u TC. Mitotická aktivita se pohybuje v rozmezí 2-10 mitóz/10HPF (2mm²), je vyšší proliferační aktivita Ki-67. Pokud jsou přítomny nekrózy, lze diagnózu stanovit i při nižším počtu mitóz.

V malém vzorku je problematika hodnocení obdobná jako u TC. Neuroendokrinní morfologie je obvykle patrná. Při malé velikosti vzorku a přítomnosti nekroz a/nebo odpovídajícím počtu mitóz lze stanovit dg. neuroendokrinní tumor, nejspíše atypický karcinoid. Nekrózy je v malých vzorcích nutno posuzovat vždy obezřetně a zvážit následek ischemie či předchozí terapie. Pomůže i proliferační aktivita Ki-67, která se u AC pohybuje mezi 5-20 %. Dosahuje-li v malém vzorku počet mitóz již horní hranice a jsou přítomny nekrózy, nelze vyloučit LC-NEC. Malobuněčný karcinom v malých vzorcích obvykle postrádá NE morfologii a mitotická aktivita je vysoká.

V resekátu nebývá diagnóza obtížná. Výjimečně může při morfologii karcinoidu a bez výraznějších nekroz počet mitóz přesáhnout stanovenou hranici, nádor je pak klasifikován jako LCNEC. Zvláštní morfologické varianty odlišíme imunohistochemicky.

Velkobuněčný neuroendokrinní karcinom (LCNEC) je nádor vysokého stupně malignity (NEC grade III). Lokalizován je především na periférii.

Diagnóza je založena na neuroendokrinní morfologii, cytologickém vzhledu velkých atypických nádorových buněk, mitotické aktivitě – více než 10 mitóz/10HPF (2mm²) a pozitivitě alespoň jednoho z NE markerů.

V malých vzorcích závisí diagnóza na rozpoznání NE morfologie. Pokud je morfologie zřetelná, cytologie nemalobuněčná, mitotická aktivita vysoká (zpravidla dosahující až desítek mitóz na 10 HPF) a imunohistochemie pozitivní, je možné stanovit dg. nemalobuněčný karcinom, nejspíše LCNEC. Výjimečně může být při typické morfologii imunohistochemie negativní, pak stanovíme dg. nemalobuněčný karcinom s NE morfologií, v praxi však půjde především o resekáty. Karcinoid (TC i AC) odliší počet mitóz, SCLC má odlišný cytologický vzhled (zejména vyšší nukleocytoplazmatický poměr a charakter chromatinu, který je hrubý, nejsou patrná jádérka). V případě, že NE morfologie není patrná, vyšetření NE markerů neprovádíme a vyšetřujeme jako nemalobuněčný karcinom NOS. Diagnóza velkobuněčného karcinomu se v malých vzorcích neužívá, také smíšené typy LCNEC lze posoudit výhradně v resekátu.

V resekátu je postup obdobný, diagnóza však není snadná, vzájemná shoda 4 hodnotitelů se udává 55%. NE architektura, doplněná o příslušnou imunohistochemii, rozsáhlé nekrózy a vysoká mitotická aktivita jsou základními rysy LCNEC. V cytologii je vedoucím znakem prominence jáderek. Chromatin je hrubý, koncentrovaný na periférii jádra, jehož velikost zpravidla přesahuje rozměr 3 klidových lymfocytů. Cytoplazma je středně objemná. Morfologicky nejbliže, kromě AC a SCLC, stojí karcinom bazaloidní, který ale neexprimuje NE markery a bývá TTF-1 negativní/p63 pozitivní. Nemalobuněčný karcinom s neuroendokrinní morfologií bez positivity NE markerů se chová obdobně jako LCNEC. O kombinovaných typech LCNEC platí totéž co o kombinovaných typech SCLC. Pozn. k expresi NE markerů v jiných nemalobuněčných karcinomech - viz komentář níže.

Malobuněčný karcinom (SCLC) je nádor vysokého stupně malignity (NEC grade III). Lokalizován bývá převážně centrálně, méně na periférii.

Diagnóza je založena na cytologickém vzhledu, neuroendokrinní morfologii, přítomnosti rozsáhlých nekroz a velmi vysoké mitotické aktivitě. Imunohistochemie je důležitá hlavně v diferenciální diagnóze.

V malých vzorcích nacházíme četné odběrové artefakty, stírací efekt jader je téměř pravidlem a neuroendokrinní morfologie není zřetelná. Špatná čitelnost vzorku a malobuněčný charakter infiltrátu zakládají první podezření na SCLC. Četné jsou apoptózy, mitotická aktivita je vysoká, jádra jsou bez jáderek. Proliferační aktivita Ki-67 přesahuje 80 %. V první řadě je nutné odlišit maligní lymfom, který je LCA pozitivní, výjimečně PNET, který je CK/TTF-1 negativní a méně mitoticky aktivní. Karcinoidy vylučuje mitotická aktivita, LCNEC při absenci NE morfologie a nemalobuněčné cytologii nepřichází v úvahu. Vyšetření cytokeratinu bývá někdy svízelné, pozitivita může být pouze tečkovitá. Z neuroendokrinních markerů dává nejlepší výsledky CD56, méně synaptofyzin a chromogranin A. Pozitivita TTF-1 u SCLC nemůže sloužit

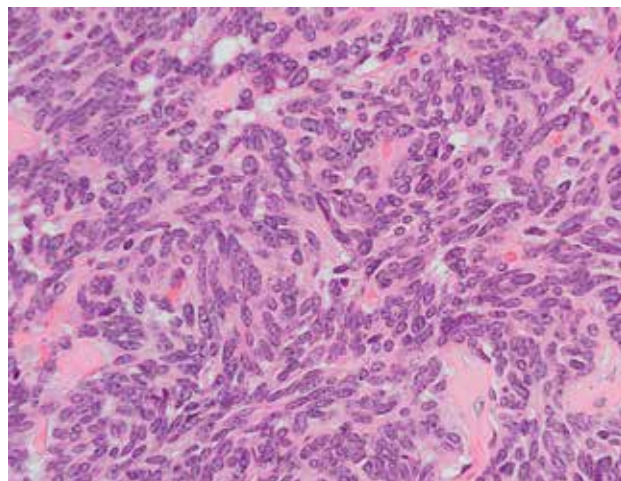
jako doklad plicního původu nádoru. Diagnózu lze stanovit i při negativitě NE markerů, je nutno vyloučit zejména malobuněčnou variantu dlaždicobuněčného karcinomu (pozitivita p40/p63) a další níže diferencované (např. metastatické) tumory.

Cytologickou diagnózu nelze stanovit v případě, že materiál je těžce zhmožděný a neumožňuje spolehlivé morfologické zhodnocení. V takovém případě je nezbytná alespoň pozitivita NE markerů v cytobloku.

Diagnostickým problémem mohou být vzorky se směsnou populací nádorových buněk SCLC a buněk identického vzhledu, jejichž velikost je však větší. Avšak i u nádorů obsahujících tyto tzv. „intermediate cells“ či u případů, kde nelze z malého vzorku vyloučit přítomnost kombinovaného SCLC a LCNEC, je třeba nádor diagnostikovat jako SCLC, protože prognóza těchto pacientů je identická.

V resekátu se s SCLC setkáme výjimečně vzhledem k odlišnému způsobu léčby a vysoké spolehlivosti diagnózy z endoskopických vzorků. Velikost buněk v resekátu bývá větší, než v malých vzorcích, jejich rozměr však nepřesahuje rozměr 3 klidových lymfocytů. Chromatin je rovnoměrně rozptýlený, jádérka drobná, jádra se často překrývají, množství cytoplazmy je minimální. LCNEC má zřetelnější NE vzhled a výrazná jádérka, cytoplazma je středně objemná, buňky jsou často polygonální. Imunohistochemie umožní vyloučení maligního lymfomu, PNET a nádoru z malých modrých buněk. Malobuněčný dlaždicobuněčný karcinom pomůže odlišit p40/p63. Některé adenokarcinomy po che-

moterapii mohou mít malobuněčnou morfologii, zachovávají si však ostatní vlastnosti, včetně přítomnosti *EGFR* mutací. Kombinované typy SCLC s LCNEC, velkobuněčným karcinomem, dlaždicobuněčným karcinomem a adenokarcinomem přicházejí asi v 10 %, po chemoterapii stoupá jejich zastoupení až na 30 %. Zatím neexistují spolehlivá data prokazující, že by se chování kombinovaných SCLC lišilo od čistých SCLC.



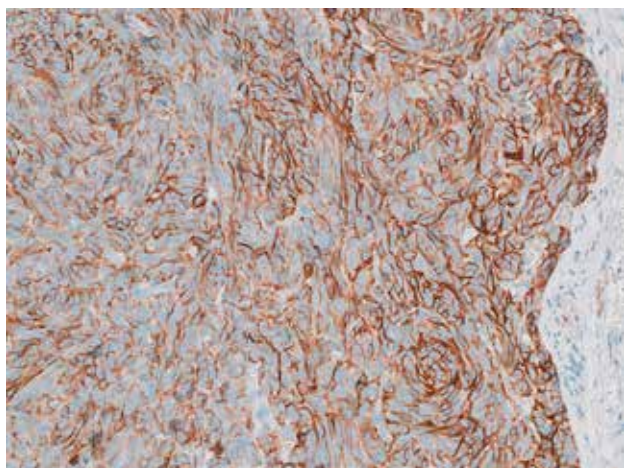
Obr. 25 Typický karcinoid tvořený převážně elongovanými či vřetenitými elementy bez výraznějších atypií, bez mitotické aktivity.

Tab. 4. Přehled hlavních charakteristik neuroendokrinních nádorů plic

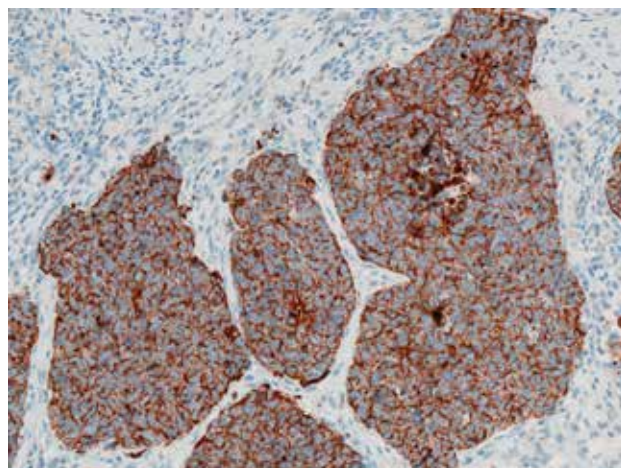
	Typický karcinoid	Atypický karcinoid	Malobuněčný karcinom	Velkobuněčný neuroendokrinní karcinom
Anamnéza kouření	Bez vztahu	Častější	Téměř vždy	Téměř vždy
Makroskopicky	Často centrální léze, endoluminální, šedo-žluté barvy, endoskopicky s vysokou mírou vaskularizace	Často periferní léze, hůře ohraničená	Špatně ohraničená centrální léze s propagací, šedo-bělavé barvy, rozsáhlé oblasti krvácení	Špatně ohraničená léze s propagací, šedo-bělavé barvy, rozsáhlé oblasti krvácení
Nekrózy	Nepřítomné	Fokálně	Rozsáhlé	Rozsáhlé
Lymfatické metastázy	≤10 %	50-70 %	Prakticky vždy	Velmi často
Vzdálené metastázy	≤1 %	20-25 %	90-100 %	≥50 %
Mikroskopický obraz	Typický neuroendokrinní vzhled (tzv. organoidní) uniformní, granulovaná cytoplazma oválný, kulovitý či vřetenitý tvar	Méně organoidní vzhled, více jaderných pleomorfií více buněčných atypií oválný, kulovitý či vřetenitý tvar	Chybí organoidní uspořádání časté hmoždící artefakty často Azzopardiho efekt nízký N/C poměr	Chybí organoidní uspořádání časté hmoždící artefakty někdy Azzopardiho efekt vysoký N/C poměr bizarní buňky velká jádra
Počet mitóz/2mm ²	≤ 2	3-10	≥10	≥10
Neuroendokrinní markery	Často difúzní chromogranin A, synaptofyzin i CD56	Často difúzní chromogranin A, synaptofyzin i CD56	Často difúzní synaptofyzin a CD56, chromogranin A jen slabě někdy	Často difúzní Koexpres chromogranin A i synaptofyzin (70%) a CD56
Proliferační index (Ki-67)	Do 2 %	Do 25 %	Často 80-90 %	Obvykle přes 50 %, často 80-90 %
Imunohistochemické markery	TTF-1 v cca 50 %, většinou slabě, Až 50 % exprimuje estrogenový receptor	TTF-1 v cca 50 %, většinou slabě	TTF-1 více než 90 % Typická granulární pozitivita cytokeratinů	TTF-1 v cca 50 % P63 a cytokeratin 5/6 negativní

Poznámka: Karcinomy s neuroendokrinní diferenciací jsou nádory bez NE morfologie (tj. skvamózní, adenokarcinom) s expresí

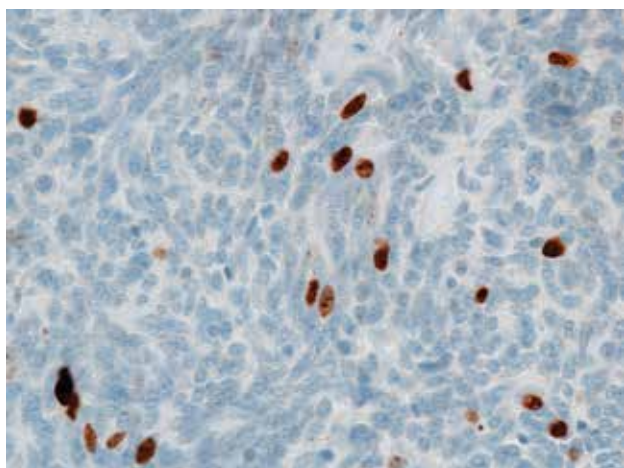
neuroendokrinních markerů. Neuroendokrinní diferenciace u NSCLC zatím nemá terapeutický ani prognostický význam.



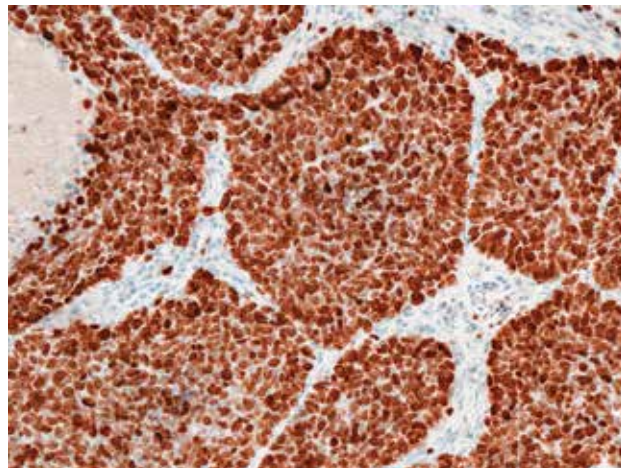
Obr. 26 Typický karcinoid – difúzní membránová pozitivita v průkazu CD56 potvrzuje neuroendokrinní původ nádoru.



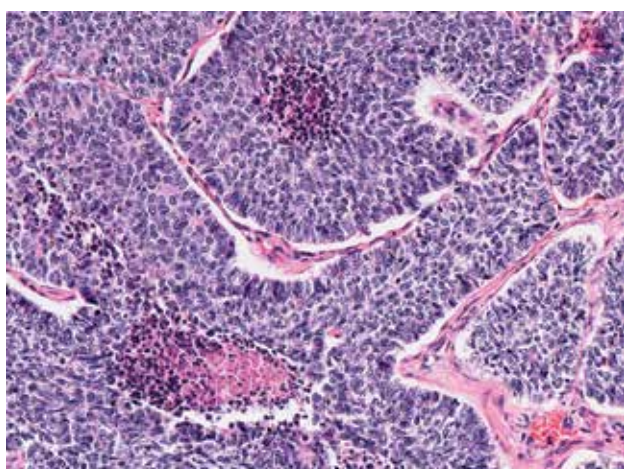
Obr. 29 LCNEC – imunohistochemická demonstrace synaptofyzinu je difúzně pozitivní prakticky ve všech nádorových buňkách.



Obr. 27 Typický karcinoid – hodnocení proliferační aktivity průkazem Ki-67.



Obr. 30 LCNEC – s velmi vysokou proliferační aktivitou koresponduje exprese Ki-67 v téměř 100 % nádorových buněk.



Obr. 28 LCNEC – výrazně atypické nádorové buňky s minimem cytoplazmy vykazující solidně-alveolární růst s přítomností centrálních nekróz.

G. Velkobuněčný karcinom a NSCLC NOS

Velkobuněčný karcinom je tumor, který postrádá morfolo- gické i imunohistochemické charakteristiky adenokarcinomu, dlaždicobuněčného karcinomu a neuroendokrinních tumorů. Je tedy diagnózou *per exclusionem*.

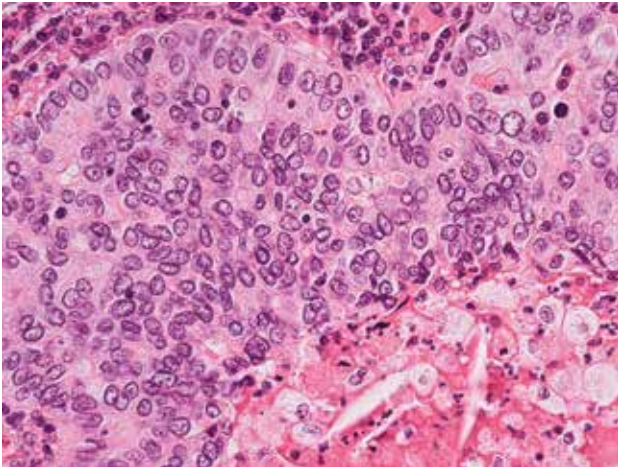
Diagnóza velkobuněčného karcinomu je možná pouze z re- sekátu a vyžaduje extenzivní sampling.

WHO 2015 rozlišuje tři varianty:

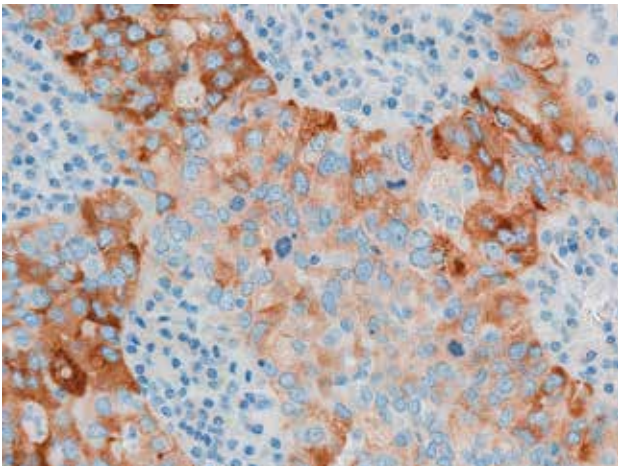
Large cell carcinoma with null immunohistochemical featu- res – neexprimuje žádné specifické markery

Large cell carcinoma with unclear immunohistochemical features – může mít fokální pozitivitu dlaždicových markerů, ale v méně než 10 % nádorových buněk

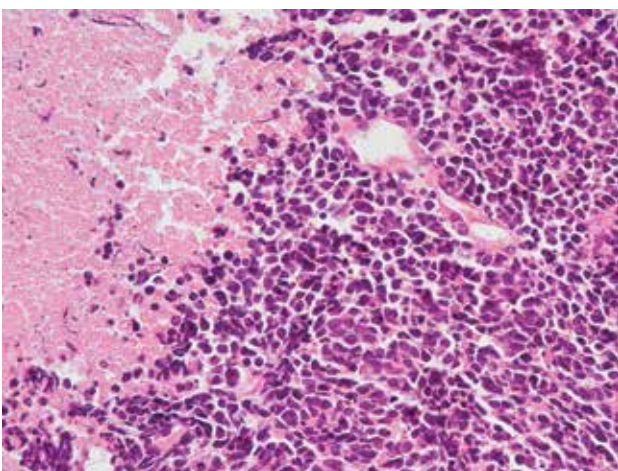
Large cell carcinoma with no additional stains – pokud morfologie tumoru není vyhraněná směrem ke dlaždicovému karcinomu nebo adenokarcinomu, ale nemáme dostupné imu-



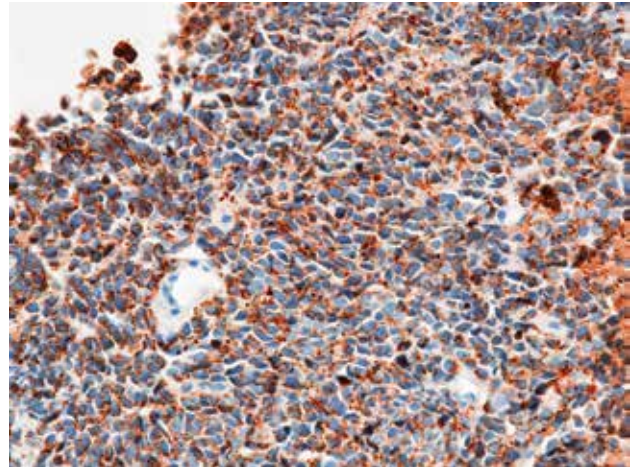
Obr. 31 LCNEC – detail. Jádra nádorových buněk jsou zřetelně větší než u malobuněčného karcinomu, také cytoplazmatický lem je objemnější. Je patrná vysoká mitotická aktivita a přítomnost nekrózy.



Obr. 32 LCNEC – tentýž případ v imunohistochemickém průkazu chromograninu A. Pozitivita je variabilní, zřetelně slabší než u synaptofyzinu. Zároveň je opět patrná vysoká mitotická aktivita.



Obr. 33 Malobuněčný karcinom – drobné nádorové buňky s minimálním množstvím cytoplazmy. Charakteristické jsou jak mechanické artefakty, tak přítomnost koagulační nekrózy.



Obr. 34 Malobuněčný karcinom – difúzní cytoplazmatická exprese synaptofyzinu má vzhledem k minimálnímu množství cytoplazmy zvláštní, „tečkovitý“ charakter.

nohistochemické metodiky, mělo by to být z reportu jasné – k tomu je určena právě tato kategorie.

Tumory by měly mít expresi cytokeratinů.

V diagnostice z malých vzorků odpovídá velkobuněčnému karcinomu diagnóza **nemalobuněčný karcinom blíže nespecifikovaný**. Pokud sem řadíme tumor z důvodu, že nemůžeme provést imunohistochemii (například máme k dispozici pouze cytologii), mělo by to být z diagnostického závěru zřejmé.

V diferenciální diagnóze jsou především tumory, které v dřívější klasifikaci kritéria pro velkobuněčný karcinom splňovaly:

Nízce diferencovaný dlaždicobuněčný nerohovějící karcinom – na tuto diagnózu stačí pozitivita více než 10 % nádorových buněk při průkazu p63, p40 nebo CK5/6

Solidně rostoucí adenokarcinom – stačí pozitivita i méně než 10 % nádorových buněk při průkazu TTF-1 (případně napsinu A) nebo přítomnost hlenových vakuol ve speciálním barvení (stačí 5 intracytoplazmatických kapének ve 2 polích největšího zvětšení). Koexprese TTF-1 a některého z dlaždicových markerů (na stejných buňkách) se u diagnózy adenokarcinomu vyskytovat může a nemění diagnózu. Cytokeratin 7 není specifickým markerem pro adenokarcinom (zejména může být exprimován v dlaždicobuněčných karcinomech). Samotná pozitivita cytokeratinu 7 není dostatečná na diagnózu adenokarcinomu.

Nízce diferencovaný adenoskvamózní karcinom – má fokální expresi dlaždicových a adenokarcinomových markerů na různých populacích buněk.

Velkobuněčný neuroendokrinní karcinom – tento tumor již není subvariantou velkobuněčného karcinomu a řadí se nově do skupiny neuroendokrinních tumorů. Pro diagnózu je nejdůležitější morfologie, pokud tumor má jednoznačné neuroendokrinní rysy, stačí pro tuto diagnózu pozitivita i pouze jednoho neuroendokrinního markeru (chromogranin A, synaptofyzin, CD56).

Sarkomatoidní karcinomy – pokud má tumor vřetenobuněčnou nebo „giant cell“ komponentu, měla by být identifikována a tumor zařazen do příslušné kategorie sarkomatoidních karcinomů.

Z lézí uvedených dříve jako varianty velkobuněčného karcinomu byly některé jednotky zrušeny jiné přesunuty.

Velkobuněčný neuroendokrinní karcinom spadá pod neuroendokrinní tumory.

Bazaloidní karcinom je nyní zařazen jako bazaloidní dlaždicobuněčný karcinom u dlaždicobuněčných tumorů.

Lymphoepithelioma-like karcinom tvoří samostatnou jednotku.

Světlobuněčný karcinom a velkobuněčný karcinom s rhabdoidními rysy by se nyní měly zařadit podle exprese imunohistochemických markerů.

U velkobuněčného karcinomu jsou popisovány mutace *EGFR*, proto by jejich vyšetření mělo být vždy provedeno stejně jako vyšetření dalších prediktivních markerů.

Diagnóza z malých vzorků – NSCLC NOS:

V diagnostice z malých vzorků se diagnóza velkobuněčného karcinomu nepoužívá. Tumory, které nesplňují diagnostická kritéria výše zmiňovaných kategorií z malých vzorků – tj. mají nepříznačnou morfolologii a jsou p63 i TTF-1 negativní, jsou klasifikovány jako NSCLC NOS a je u nich indikováno vyšetření prediktivních markerů. Vždy je nutno vylučovat metastázu tumoru jiné primární lokality (zjistit klinické informace, event. doplnit imunohistochemii).

H. Adenoskvamózní karcinom

Adenoskvamózní karcinom má dlaždicobuněčnou a adenokarcinomovou komponentu. Minoritní komponenta (ať je identifikována morfologicky nebo jen imunohistochemicky) musí tvořit minimálně 10 % nádoru. Tato diagnóza opět vyžaduje vyšetření tumoru v resekátu a pečlivý sampling.

V klasifikaci z malých vzorků této diagnóze odpovídá diagnóza NSCLC NOS s komentářem, že tumor má duální diferenciaci (a specifikací, zda jde o nález morfologický nebo imunohistochemický). Diagnóza z resekátu se zcela nekryje s diagnózou z endobiopsie – u dobře diferencovaných tumorů s rozsáhlejšími ložisky tvořenými jen jednou komponentou bude v endobiopsii adenoskvamózní karcinom poddiagnostikován.

Imunohistochemicky v malých vzorcích se do kategorie NSCLC NOS s duální diferenciací řadí tumory, které mají expresi dlaždicových markerů (p63, p40 a CK5/6) na části buněk. Buňky p63 negativní mohou (ale nemusí) mít expresi antigenu TTF-1. U TTF-1 negativní adenokarcinomové komponenty je šikovní kombinace markerů s cytoplazmatickou expresí – CK5/6 zřetelně vykreslí část buněk a CK7 je komplementárně pozitivní v jiných buňkách. CK 7 může být pozitivní ve všech buňkách, v tom případě bývá zjevná výrazně slabší pozitivita ve strukturách pozitivních při průkazu CK5/6. (Pozor – rohovější dlaždicobuněčné struktury jsou p40/p63 negativní, CK7 pozitivní). Ve vzorcích z jehlové biopsie je třeba si dát pozor na zavzaté původní struktury alveolů v dlaždicobuněčném karcinomu, jde o drobné blandně vyhlížející TTF-1 pozitivní struktury umístěné na periférii nádorových čepů.

Duálně diferencované tumory mívají relativně často mutace *EGFR* i *ALK* translokace.

V diferenciální diagnóze je mukoepidermoidní karcinom. Dobře diferencované tumory lze většinou odlišit morfologicky. U high grade karcinomů lze použít genetiku – přestavba *MAML2*

u mukoepidermoidního karcinomu (t.č. to ale nepovažujeme za zcela nutné, terapie se u těchto dvou jednotek víceméně neliší).

Tumory s expresí TTF-1 i p63 na stejných buňkách se řadí do kategorie „NSCLC spíše adenokarcinom“.

CH. Sarkomatoidní karcinom

Jde o skupinu nízce diferencovaných nemalobuněčných karcinomů se sarkomovou nebo sarkomatoidní komponentou. Definitivní diagnóza je možná jen z resekátu. Tyto tumory mají velmi agresivní chování, často je patrna angioinvasze. Řadí se sem následující jednotky:

Vřetenobuněčný karcinom má vřetenité karcinomové elementy tvořící síť nebo fascikly, často zánětlivá infiltrace stromatu, diagnosticky důležitá je konstantní exprese epiteliálních markerů.

Obrovskobuněčný karcinom tvoří nekohezivní vysoce atypické, často mnohоядерné velké buňky a hodně zánětlivého infiltrátu (neutrofilní granulocyty, emperipoléza), také má konstantně expresi epiteliálních markerů.

Vřetenobuněčný a obrovskobuněčný karcinom se mohou vyskytovat jako samostatné nádory, ale častěji tvoří sarkomatoidní komponentu pleomorfního karcinomu.

Pleomorfní karcinom je nejčastější ze skupiny sarkomatoidních karcinomů. Má dvě komponenty – jedna je tvořena strukturami klasického nemalobuněčného karcinomu (dlaždicobuněčná, adenokarcinomová, velkobuněčná); druhá komponenta (měla by tvořit minimálně 10 % nádoru) je sarkomatoidní (vřetenobuněčná nebo obrovskobuněčná). V rámci pleomorfního karcinomu někdy sarkomatoidní komponenta ztrácí expresi epiteliálních markerů.

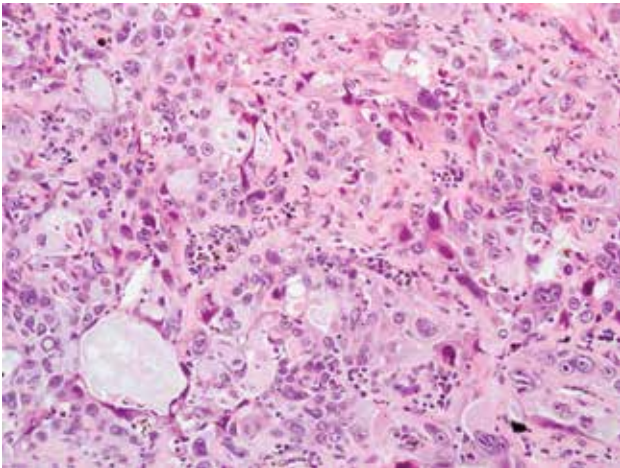
Karcinosarkom je velmi vzácný. Jako předchozí jednotka má diferencovanou nemalobuněčnou komponentu, ale liší se tím, že nemá komponentu sarkomatoidní, ale skutečně sarkomovou (osteosarkom, rhabdomyosarkom, chondrosarkom).

Plicní blastom je extrémně vzácný – má komponentu fetálního adenokarcinomu a primitivní stromální komponentu.

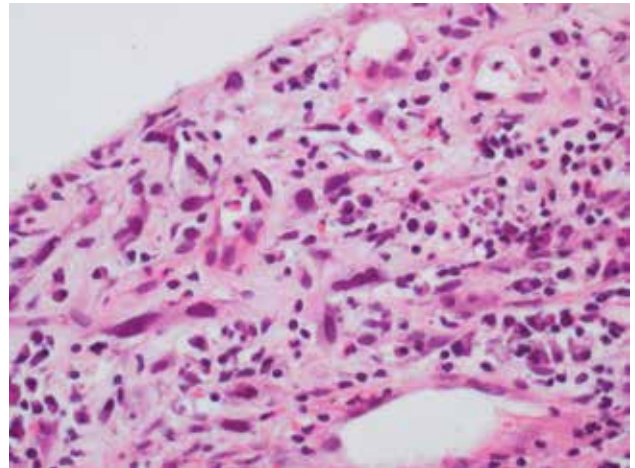
Diferenciální diagnostika těchto afekcí je i v resekátu někdy poměrně problematická – hlavní jednotky, které je třeba odlišit, jsou mezoteliom (pozitivita mezoteliálních markerů, někdy jen klinická prezentace – obvykle nedělá kulovité ložisko, ale vystylá pleurální dutinu), synoviální sarkom (charakteristická genetika), angiosarkom, inflamatorní myofibroblastický tumor, metastázy (sarkomy, maligní teratom...).

Vyšetření prediktivních markerů se řídí přítomnou diferencovanou komponentou.

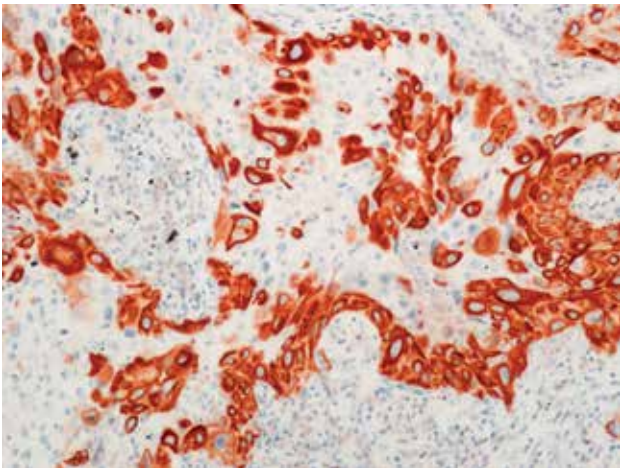
Diagnóza z malých vzorků: V malých vzorcích bychom měli věnovat pozornost dvěma věcem – přítomnost sarkomatoidní komponenty výrazně zhoršuje prognózu a přítomnost diferenciaci směrem k adenokarcinomu nebo dlaždicobuněčnému karcinomu (ať již jako přítomnost diferencované komponenty nebo exprese p40/p63 či TTF-1 v sarkomatoidně vyhlížejících strukturách) ovlivňuje další terapeutické přístupy k pacientovi s tímto nádorem. Tyto dvě podstatné věci by se vždy měly objevit v diagnostickém závěru, který zahrnuje všechny zmiňované jednotky (dlaždicobuněčný karcinom, adenokarcinom, NSCLC spíše dlaždicobuněčný karcinom, NSCLC spíše adenokarcinom, NSCLC NOS) s komentářem, že je přítomna i sarko-



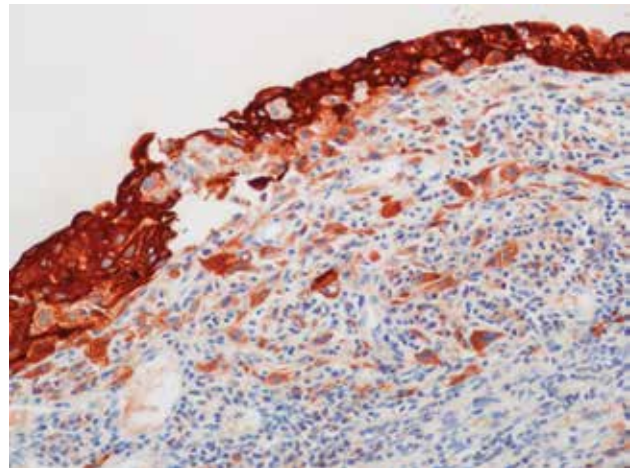
Obr. 35 Adenoskvamózní karcinom se směsnou přítomností buněk s evidentní dlaždicobuněčnou diferenciací i elementů žlázových.



Obr. 37 Sarkomatoidní karcinom – vysoce atypické vřetenobuněčné elementy s hyperchromními jádry jsou rozptýlené v bohaté mezibuněčné matrix.



Obr. 36 Adenoskvamózní karcinom – při průkazu CK5/6 lze dobře demonstrovat duální diferenciaci nádorových buněk (pozitivita v dlaždicových elementech, negativita ve žlázových).



Obr. 38 Sarkomatoidní karcinom – pozitivita nádorových buněk v průkazu cytokeratinu. Intenzita exprese je nižší než v povrchovém epitelu.

matoidní komponenta; nebo jde o NSCLC NOS se sarkomatoidní (vřetenobuněčnou nebo giant cell) diferenciací.

Pozn. Někteří autoři současných publikací používají pro sarkomatoidní karcinomy jinou terminologii než WHO: monofázický sarkomatoidní karcinom jako společnou jednotku pro vřetenobuněčný a obrovskobuněčný karcinom, homologní bifázický sarkomatoidní karcinom pro pleomorfní karcinom a heterologní bifázický sarkomatoidní karcinom pro karcinosarkom.

I. Ostatní tumory

Lymphoepithelioma-like karcinom

Nově je tento tumor vyřazen jako samostatná jednotka – jde o stejný tumor, jako nacházíme v ORL oblasti, tedy o nediferencovaný karcinom, jehož nádorové buňky ros-

tu v plachtovitých formacích a obvykle vykazují expresi dlaždicových markerů a geneticky v nich identifikujeme EBV (EBER1). Stroma je bohaté lymfoidní. V diferenciální diagnóze jsou zejména hematologické malignity. Tumor má obvykle lepší prognózu než běžný nemalobuněčný karcinom.

NUT karcinom

Nová jednotka ve WHO 2015, jde opět o tumor stejného typu jako v ORL oblasti. Je to high grade karcinom s dlaždicovými rysy a specifickou translokací t(15;19). Pro diagnostiku stačí průkaz jaderné positivity v barvení protilátkou NUT ve více než 50 % nádorových buněk.

Biologické chování tohoto tumoru je extrémně agresivní, nebyla pro něj dosud vyvinuta žádná specifická terapie (proto by asi případné poddiagnostikování této jednotky – pokud nemáme dostupnou protilátku NUT – nevedlo k zásadně odlišnějšímu postupu v další terapii pacienta).

J. Nádory z bronchiálních žlázek

Mukoepidermoidní karcinom

Diagnóza z resekátu: Diagnóza mukoepidermoidního karcinomu je opět stanovitelná pouze z resekátu. Jde o tumor vycházející z bronchiálních žlázek, který roste nejčastěji polyloidně endobronchiálně. Diagnostika je stejná jako u tumorů slinných žláz – jsou zde tři typy buněk: dlaždicové, žlázové a intermediární. Jde o poměrně vzácné nádory, které se však vyskytují relativně častěji u dětí. Rozlišujeme nádory nízcce a vysoce maligní. Nízcce maligní nádory mají v případě, že jsou resekabilní, poměrně příznivou prognózu. Nízcce diferencovaný mukoepidermoidní karcinom je někdy prakticky nemožné odlišit od adenoskvamózního karcinomu, prognóza je u obou nádorů podobně nepříznivá. Mukoepidermoidní karcinom má specifickou *MAML2* přestavbu.

Diferenciálně diagnosticky je pro diagnózu mukoepidermoidního karcinomu podstatný exofytický endobronchiální

růst, nepřítomnost in situ komponenty v epitelu bronchu, chybění keratinizace nebo přítomnost lépe diferencovaných partií.

Diagnóza z malých vzorků: Protože tato diagnóza není jednoznačně stanovitelná z endobiopsie, je diagnostika v malých vzorcích v podstatě stejná, jako bylo popisováno u adenoskvamózního karcinomu (včetně indikace k imunohistochemickému a genetickému vyšetření). Pokud jde o endobronchiální odběr a poměrně dobře diferencovanou afekci s dlaždicobuněčnou i adenokarcinomovou komponentou, je třeba zejména u mladších pacientů na možnost mukoepidermoidního karcinomu pomýšlet.

Adenoidně cystický karcinom

Je tumor stejného vzhledu jako ve slinných žlázách hlavy a krku, hlavním diagnostickým znakem je přítomnost extracelulární matrix z materiálu z bazálních membrán. Tumor se vyskytuje hlavně v průdušnici a velkých bronších. Pokud

Tab. 5. Postup při vyšetřování vzorků plicních nádorových lézí.

morfologie	základní IHC	vhodnost další IHC	diagnóza	predikt. markery
jednoznačná pro dlaždicobuněčný karcinom	není třeba		dlaždicobuněčný karcinom	PD-L1
jednoznačná pro adenokarcinom	není třeba, je však důležité potvrdit primární plicní původ (TTF-1, napsin A)	k vyloučení metastázy jiného adenokarcinomu	adenokarcinom	EGFR, ALK, PD-L1
jednoznačně dlaždicová i adenokarcinomová diferenciaci	není třeba		NSCLC s dlaždicobuněčnou i adenokarcinomovou diferenciací, možný adenoskvamózní karcinom	EGFR, ALK, PD-L1
suspektní z neuroendokrinní diferenciaci	TTF-1, CD56, synaptofyzin, chromogranin A		neuroendokrinní karcinom (viz text)	
nepříznačná morfologie	p40/p63 pozitivní difúzně na všech buňkách TTF-1 negativní		NSCLC spíše dlaždicobuněčný karcinom	PD-L1
nepříznačná morfologie	p40/p63 negativní TTF-1 pozitivní difúzně na všech buňkách		NSCLC spíše adenokarcinom	EGFR, ALK, PD-L1
nepříznačná morfologie	p40/p63 i TTF-1 pozitivní na stejných buňkách		NSCLC spíše adenokarcinom	EGFR, ALK, PD-L1
nepříznačná morfologie	p40/p63 i TTF-1 negativní kapénky hlenu přítomny	vyloučit IHC metastázy	NSCLC spíše adenokarcinom	EGFR, ALK, PD-L1
nepříznačná morfologie	p40/p63 i TTF-1 negativní kapénky hlenu nepřítomny	vyloučit IHC metastázy a neuroendokr tu	NSCLC NOS	EGFR, ALK, PD-L1
nepříznačná morfologie	p40/p63 pozitivní na části buněk TTF-1 negativní	CK7 výrazně silněji pozitivní na buňkách p63 negativních nebo difúzně pozitivní a CK5/6 pozitivní striktně jen na p63 pozitivních buňkách	NSCLC NOS, možný adenoskvamózní karcinom	EGFR, ALK, PD-L1
nepříznačná morfologie	p40/p63 a TTF-1 pozitivní na různých buňkách		NSCLC NOS, možný adenoskvamózní karcinom	EGFR, ALK, PD-L1
fokálně jednoznačná dlaždicobuněčná nebo adenokarcinomová diferenciaci, jinde nepříznačná				
nepříznačná morfologie				
fokálně jednoznačná dlaždicobuněčná nebo adenokarcinomová diferenciaci, jinde nepříznačná				

je resekabilní, měl by se odstranit s delším úsekem makroskopicky nepostíženého bronchu, protože roste často infiltrativně podél chrupavky a perineurálně. Tumor nemívá *EGFR* mutace, často vykazuje pozitivitu markeru CD117 (c-kit), expresi MYB a bcl2. Protože může metastazovat i desítky let po diagnóze, je nutná dlouhodobá dispenzarizace pacientů.

Vzácně mohou být přítomny i jiné maligní i benigní tumory slinných žláz se stejnou diagnostikou jako je tomu u tumorů hlavy a krku.

Poznámka:

Základní markery dlaždicové diferenciaci – p63, p40 (lehce méně senzitivní CK5/6).

Základní markery adenodiferenciaci – TTF-1, napsin A (pozor na pozitivitu v makrofázích), barvení na hlen (alc. modř).

Základní markery neuroendokrinní diferenciaci – CD56, synaptofysin a chromogranin A.

TTF-1 pozitivita není synonymum adenokarcinomu – asi polovina velkobuněčných neuroendokrinních karcinomů je pozitivních, pokud si nejsme jisti, zda je tumor NSCLC spíše adenokarcinom nebo neuroendokrinní karcinom (např. pouze jeden pozitivní neuroendokrinní marker, buňky s velkým množstvím cytoplazmy) – je asi jedno, ke které diagnóze se přikloníme, nicméně tumor by měl být poslán na vyšetření prediktivních markerů. Pokud má tumor morfologii pro adenokarcinom, měl by se i při pozitivních neuroendokrinních markerech hodnotit jako adenokarcinom.

Tumory se susp. sarkomatoidní morfologií hodnotit stejně jako tumory s nepříznačnou morfologií (tj. pokusit se dourčit event. diferencovanou komponentu, sarkomatoidní komponentu vždy zmiňovat ve výsledku (významně prognosticky nepříznivý faktor).

K. Testování prediktivních markerů

S rozvojem tzv. cílené biologické léčby stoupá význam detailní klasifikace karcinomu plic na molekulární úrovni. Nasazení této terapie je bezpodmínečně závislé na histologické typizaci nádoru patologem a následném stanovení prediktivních markerů na molekulární úrovni. Prediktivní vyšetření plicních nádorů jsou v současné době realizována na základě dohody mezi ČOS, SČP a VZP. Vyšetření v současné době zahrnují hodnocení mutačního stavu genu *EGFR*, chromozomálních translokací zasahujících gen *ALK* a *ROS1* a imunohistochemické vyšetření exprese PD-L1. Jedná se však o oblast velmi dynamickou a algoritmy testování i spektrum vyšetřovaných markerů se mění. Nižší uvedené odráží aktuální situaci v době vydání guidelines, případné změny jsou k nalezení např. na stránkách Společnosti českých patologů ČLS JEP (patologie.info) v záložce „Standardy“.

V případě genu *EGFR* se jedná o vyšetření bodových variant a krátkých delecí a inzercí v exonech 18-21 pomocí metod založených na PCR (qPCR, multiplexní PCR s reverzní hybridizací na stripu pro detekci specifických variant) nebo sekvenování (dnes již v této indikaci jen málo používané přímé Sangerovo sekvenování, masivně paralelní sekvenování

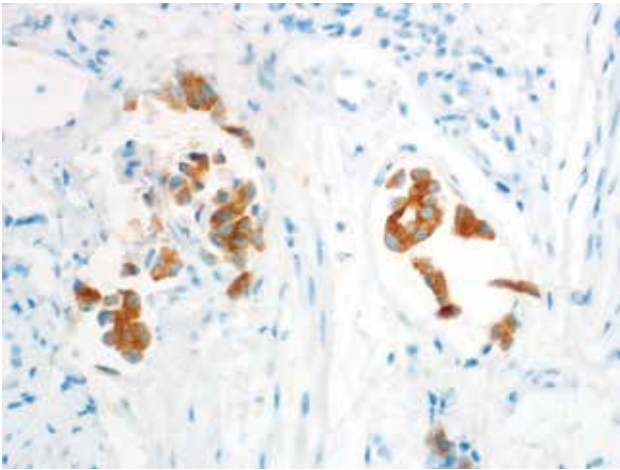
nové generace (NGS) – ampikonové nebo tzv. hybrid capture sekvenování).

Aberace zasahující gen *ALK* nebo *ROS1* se provádí primárně pomocí imunohistochemického stanovení přítomnosti nebo nepřítomnosti exprese proteinu. V případě vyšetření ALK lze pozitivní výsledek pokládat za definitivní a na jeho podkladě lze indikovat léčbu (za pozitivní výsledek se pokládá 3+ při vyšetření s protilátkou D5F3 či 5A4, nebo výsledek hodnocený jako „pozitivní“ při vyšetření certifikovaným kitem D5F3 Ventana). V případě nejednoznačného výsledku či positivity 1+ a 2+ je indikováno vyšetření metodou FISH. Imunohistochemické vyšetření s protilátkou proti ROS1 (klon D4D6) je vždy pouze screeningové a na podkladě jeho výsledku nelze indikovat léčbu. Negativní případy se dále nevyšetřují, u všech pozitivních případů (IHC 1+,2+,3+) a nejednoznačných případů se pokračuje vyšetřením přestavby pomocí FISH.

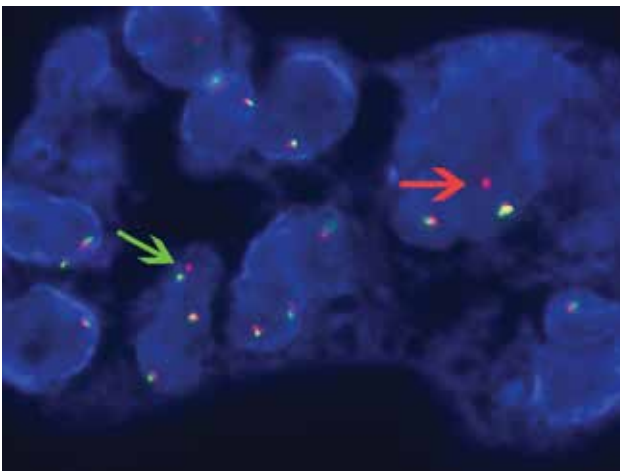
Testování exprese **PD-L1 u všech** nemalobuněčných karcinomů plic (NSCLC), tedy adenokarcinomů, dlaždicobuněčných karcinomů, nemalobuněčných NOS i dalších typů, nabylo na praktickém významu v průběhu roku 2016 v souvislosti s čím dále větší dostupností léčby zaměřené na blokování receptoru PD-1 či jeho ligandu PD-L1. Testování exprese PD-L1 má svá úskalí, která se týkají jak metodiky, tak interpretace. V současné době jsou pro prediktivní testování k dispozici 4 protilátky, které byly použity v registračních studiích. Při hodnocení nádorových elementů se analyzuje pouze membránová exprese PD-L1, to bez ohledu na její charakter (kompletní/inkompletní) a intenzitu (slabá/střední/silná). Důležité je hodnotit expresi pouze na vitálních nádorových elementech, z hodnocení je třeba vynechat oblasti s nekrózami či apoptózami, odlišit expresi v makrofázích (což může být občas dosti problematické), která se vyskytuje normálně. Je zcela zásadní dodržovat všechny obecné principy správného hodnocení imunohistochemických vyšetření, které i přes určitá specifika exprese PD-L1 nejsou nijak odlišné od jiných protilátek.

Minimální počet nádorových buněk pro hodnocení je stanoven na 100, byť se jedná o množství do určité míry arbitrární. S ohledem na tkáň, ze které je možné testovat, se jako relevantní jeví testování z bioptických vzorků primárních nádorů i metastáz. V případě cytologií je testování možné pouze u materiálu zpracovaném metodou cytobloku. Cytologické nátěry jsou pro testování technicky nevhodné, i když se objevují práce s možným využitím i cytologických nátěrů. Pro rutinní praxi je zcela zásadní forma výstupu (reportu) prediktivního testování exprese PD-L1. Každý report hodnocení exprese PD-L1 musí dle konsenzu obsahovat typ použité protilátky a závěr, ve kterém bude explicitně uveden výsledek v podobě buď „negativní – exprese PD-L1 zastižena v < 1 % nádorových buněk“ nebo „pozitivní – exprese PD-L1 zastižena v ...“ s uvedením % pozitivních buněk.

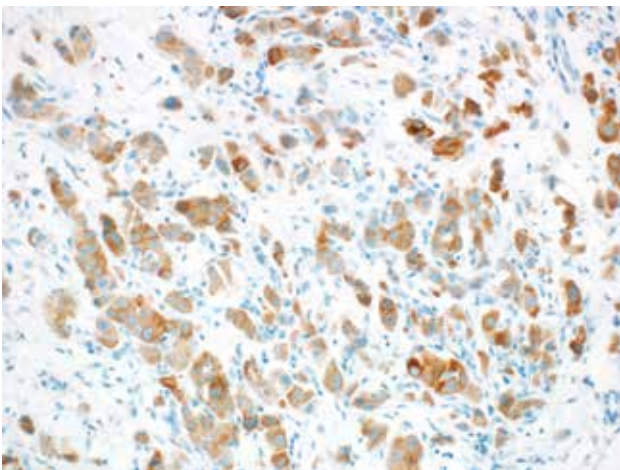
Z dalších potenciálních molekulárních markerů, které však v současné době nejsou součástí rutinního prediktivního vyšetření, se jedná o vyšetření alterací genů *KRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, *RET*, *MET*, *NTRK1,2,3*, *FGFR1,2,3*, *DDR2* nebo mutace genu *ERBB2* (*HER2*). Přinejmenším u *NTRK* se však vzhledem k brzké dostupnosti cílené léčby pro pacienty s aberací těchto genů situace pravděpodobně změní a lze



Obr. 39 Imunohistochemická pozitivita ALK v buňkách plicního adenokarcinomu vysoké intenzity (3+).



Obr. 40 Průkaz přestavby ALK metodou fluorescenční in situ hybridizace (FISH). Přestavba se projevuje buď jako tzv. izolované červené signály (červená šipka), nebo jako separace červeného a zeleného signálu způsobená inverzí genu ALK (zelená šipka).



Obr. 41 Imunohistochemická pozitivita ROS1 v buňkách plicního adenokarcinomu.

očekávat, že přítomnost chromozomálních přestaveb zasahujících *NTRK* bude dalším testovaným prediktivním markerem.

Základní principy testování prediktivních markerů

Prediktivní vyšetření se provádějí na podkladě dohody mezi ČOS, SČP a VZP (a dalších zdravotních pojišťoven) buď automaticky („reflexně“), nebo na žádost (pneumo)onkologa. Algoritmus testování naposledy aktualizovaný 8. 6. 2018 je následující:

Mutace *EGFR*

Z malých vzorků, kde je předpoklad nemožnosti vyšetření doplnit v budoucnu vzhledem k jeho malému rozměru (bronchoskopické odběry, transparietální biopsie, apod.) automaticky v referenční laboratoři u definovaných morfologických subtypů (adenokarcinom, adenoskvamózní karcinom, NSCLC spíše adenokarcinom, NSCLC NOS) v momentě stanovení dg. *EGFR* v resekátech nebo ostatních histologických typech je testováno na vyžádání onkologem.

ALK

Standardní IHC v referenční laboratoři u definovaných morfologických subtypů (adenokarcinom, adenoskvamózní karcinom, NSCLC spíše adenokarcinom, NSCLC NOS) v momentě stanovení dg. – automaticky:

- případy 3+ jsou pozitivní, dále se neověřují FISH,
- případy 0 jsou negativní, dále se neověřují FISH,
- případy 1+ a 2+ jsou nejisté (cca 5 % všech testovaných), dále se ověřují FISH, pokud je vyžádáno onkologem,
- ALK v resekátech nebo u jiných histologických typů je testován na vyžádání onkologem.

Jiné metody pro stanovení ALK (např. RT-PCR) nejsou t.č. indikovány

ROS1

Standardní IHC v referenční laboratoři na vyžádání onkologa v případě, že pro pacienta je dostupná cílená léčba.

Případy s jakoukoli pozitivitou 1+, 2+, 3+ se dále ověřují FISH, jen FISH pozitivní případy jsou považovány za definitivně pozitivní.

PD-L1 u NSCLC

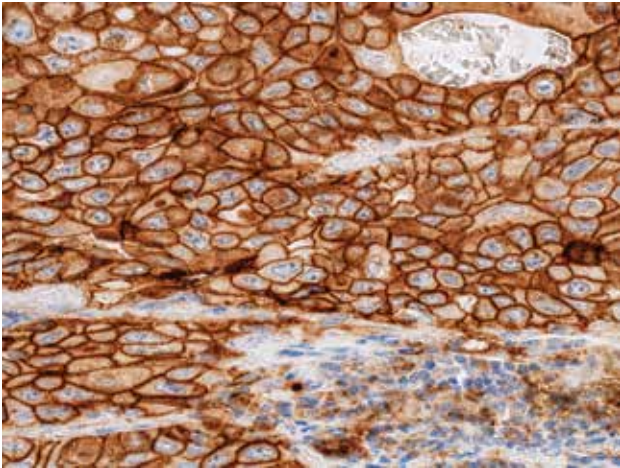
- všechny NSCLC, tedy i dlaždicobuněčné karcinomy

Primární biopsie: V RL u NSCLC v momentě stanovení dg. – automaticky.

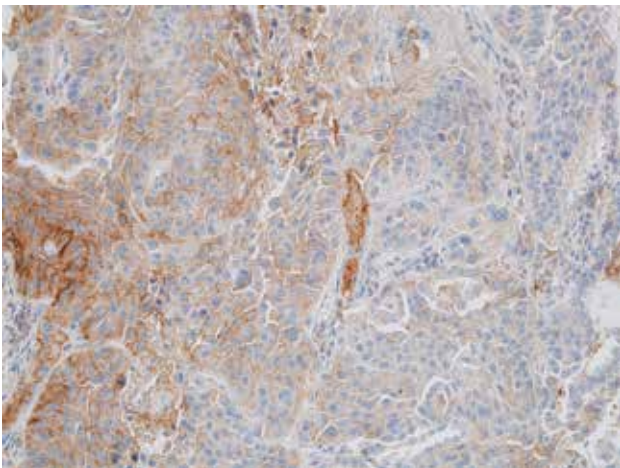
Rebiopsie: na vyžádání (pneumo)onkologa

Pro úspěšné molekulární testování je zásadní:

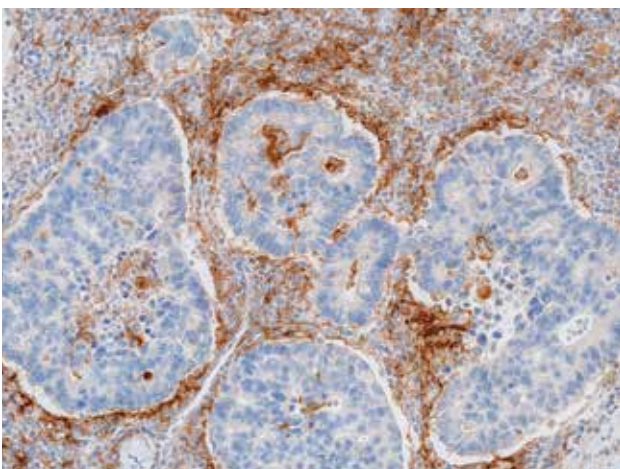
- **dodržovat podmínky preanalytické fáze:** (i) reprezentativní odběr tkáně (dostatečné množství tkáně, bez časové prodlevy před fixací materiálu, laserem spálená tkáň není vhodná pro molekulární analýzy, odvápnění tkáně, vyjma odvápnění pomocí EDTA, též způsobí úplnou degradaci DNA a nemožnost další analýzy), (ii) dodržení typu a doby fixace (vhodný je pufovaný formol pH 7,2 nebo 70% etanol).
- **zhodnotit adekvátnost vzorku:** (i) % nádorových buněk ve vzorku by mělo být >10 %; (ii) přítomnost nekrózy a velké



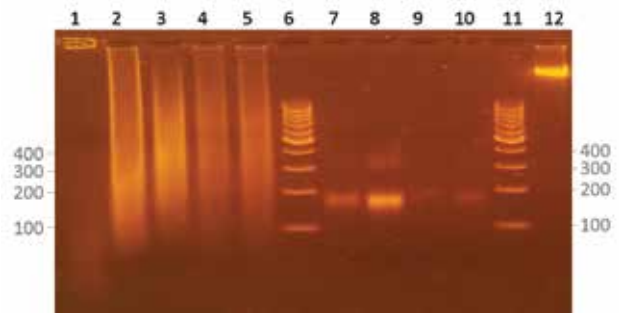
Obr. 42 Imunohistochemická pozitivita nádorových buněk PD-L1 – výrazná pozitivita prakticky všech nádorových elementů



Obr. 43 Imunohistochemická pozitivita nádorových buněk PD-L1 – pozitivita nádorových elementů kolísavé intenzity v cca 40%



Obr. 44 Imunohistochemická pozitivita nádorových buněk PD-L1 – zcela ojedinělá pozitivita nádorových elementů do 1% při pozitivitě vnitřní kontroly v makrofázích. Nádor je hodnocen jako PD-L1 negativní



Obr. 45 Ukázka různé kvality DNA izolované z různých materiálů. DNA z formalinem fixovaných a do parafinu zalitých tkání (1-3), cfDNA izolovaná z krve u tzv. tekuté biopsie (7-10) a DNA z čerstvě zamražených tkání (12). Kvalita DNA odráží jak biologickou povahu vzorku, tak způsob fixace, což je patrné na porovnání DNA izolované z formalinem fixovaných a do parafinu zalitých tkání (1-3) a cytologických nátěrů barvených MGG (4-5). Ve fixované tkáni může dojít ke značné degradaci DNA (1), která pak není vhodná pro molekulární analýzu. 6 a 11 – velikostní žebříček, čísla indikují délku v bp – páry bazí.

ho množství tukových buněk významně snižuje množství a kvalitu izolované DNA; (iii) přítomnost velkého množství lymfocytů v nádorové tkáni nebo příliš nízké procento nádorových buněk může vést k falešně negativnímu výsledku. Za určení diagnózy je odpovědný patolog, stejně tak za označení HE preparátu a určení procenta nádorových buněk v části vzorku vhodného pro izolaci DNA pro následné analýzy. Pro obohacení podílu nádorových buněk v izolovaném materiálu je nejčastěji využívána makrodisekce označených oblastí z tkáňových řezů nebo cytologických preparátů, v případech s rozestými nádorovými buňkami je obzvláště vhodná laserová mikrodisekce. V případě makro nebo mikrodisekce je doporučována izolace DNA případně příprava buněčného lyzátu z materiálu, který obsahuje >200; >10 % nádorových buněk.

Vyšetřovaný materiál

Molekulární testování lze provádět z nádorové tkáně (nejčastěji ve formě formalinem fixované a do parafinu zalité tkáně – endoskopická biopsie, resekát), případně se může jednat o cytoblok, cytologický nátěr (ne však obvykle pro vyšetření metodou FISH), případně odmontovaný HE preparát (musí se ovšem brát v potaz možná degradace DNA vlivem barviva eosinu). Většina vyšetření se tedy provádí na úrovni DNA (metody založené na PCR, sekvenování nebo FISH) nebo na úrovni exprese proteinu (IHC).

Pro vyšetření mutačního stavu genu *EGFR* za účelem predikce úspěšnosti TKI léčby u NSCLC je v současné době též v indikovaných případech přípustné vyšetření **nádorové volné cirkulující DNA (cfDNA) izolované z krevní plazmy**. Izolovaná cfDNA obsahuje 1-5 % nádorové volné cirkulující DNA (ctDNA), je tedy zapotřebí použít vysoce senzitivních metod (nejčastěji založených na principu PCR, qPCR apod.). Primárně však platí, že vzhledem ke své vyšší senzitivitě je preferováno vyšetření

mutačního stavu z nádorové tkáně. Vyšetření cfDNA by mělo být použito pouze v případě, že DNA ze vzorku nádorové tkáně není dostupná (např. kvůli jejímu poškození či malému množství), nebo pokud výsledek analýzy nebyl informativní. Dále lze vyšetření cfDNA použít u pacientů progredujících na antiEGFR léčbě v případě, že odběr vzorku tkáně je obtížně proveditelný

či nemožný, a to za účelem cíleného vyšetření zaměřeného na detekci rezistentní mutace p.T790M. Vzhledem k nižší senzitivitě vyšetření z cfDNA ve srovnání s vyšetřením ze tkáně nevylučuje negativní výsledek analýzy mutačního stavu genů z cfDNA izolované z plazmy přítomnost mutace v nádorové tkáni.

LITERATURA

- Brierley JD, Gospodarowicz MK and Wittekind C (eds) (2016). UICC TNM Classification of Malignant Tumours, 8th Edition, Wiley-Blackwell.
- Corrin B, Nicholson AG. Pathology of the Lungs: Expert Consult: Online and Print, 3ed. Churchill Livingstone, Elsevier London 2011
- Galateau-Salle F, Churg A, Roggli V, Travis WD; World Health Organization Committee for Tumors of the Pleura. The 2015 World Health Organization Classification of Tumors of the Pleura: Advances since the 2004 Classification. J Thorac Oncol. 2016 Feb;11(2):142-54.
- Kameda K, Eguchi T, Lu S, et al. Implications of the Eighth Edition of the TNM Proposal: Invasive Versus Total Tumor Size for the T Descriptor in Pathologic Stage I-IIA Lung Adenocarcinoma. J Thorac Oncol. 2018 Dec;13(12):1919-1929
- Leslie KO, Wick MR. Practical pulmonary pathology, 3.ed. Elsevier Saunders Philadelphia 2017
- Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. J Thorac Oncol. 2018 Mar;13(3):323-358.
- Matěj R, Rohan Z, Němejcová K, Dundr P. Molekulární patologie plicních karcinomů pro rutinní praxi – update 2017. Cesk Patol. 2017;53(4):159-166
- Nicholson AG, Tsao MS, Travis WD, et al. Eighth Edition Staging of Thoracic Malignancies: Implications for the Reporting Pathologist. Arch Pathol Lab Med. 2018 May;142(5):645-661
- Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al. WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. IARC Press Lyon 2015.
- Travis WD, Brambilla E, Noguchi M et al.: Diagnosis of Lung Adenocarcinoma in Resected Specimens: Implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society Classification. Arch Pathol Lab Med. 2012;136:1–23
- Travis WD, Brambilla E, Riely GJ. New Pathologic Classification of Lung Cancer: Relevance for Clinical Practice and Clinical Trials. J Clin Oncol. 2013 Mar 10;31(8):992-1001
- Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best Practices Recommendations for Diagnostic Immunohistochemistry in Lung Cancer. J Thorac Oncol. 2019 Mar;14(3):377-407

Webové odkazy:

- Společnost českých patologů ČLS JEP: <http://www.patologie.info/standardy>
- International collaboration on cancer reporting (ICCR): <http://www.iccr-cancer.org/datasets>
- College of american pathologists (CAP): <http://www.cap.org>
- Royal college of pathologists UK (RCP): <https://www.rcpath.org/>

Lung Cancer Histopathology Reporting Guide

International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR)



Family/Last name

Date of birth

Given name(s)

Patient identifiers

Date of request

Accession/Laboratory number

Elements in **black text** are CORE. Elements in **grey text** are NON-CORE.

[SCOPE OF THIS DATASET](#)

OPERATIVE PROCEDURE

- Wedge resection Lobectomy
 Segmentectomy Bilobectomy
 Other, *specify* Pneumonectomy

SPECIMEN LATERALITY

- Left Right Not provided

ATTACHED ANATOMICAL STRUCTURES

- Submitted None submitted

ACCOMPANYING SPECIMENS

- None submitted Lymph nodes Other, *specify*

TUMOUR SITE

- Upper lobe Middle lobe Lower lobe
 Bronchus, *specify site*

SEPARATE TUMOUR NODULES (Note 1)

- Absent Cannot be assessed
 Synchronous primaries (*CORE elements should be reported for each synchronous primary*)
 Present

Number of tumours

- Site** Same lobe
 Different ipsilateral lobe
 Contralateral lung

MACROSCOPIC APPEARANCE OF PLEURA (Note 2) OVERLYING TUMOUR

ATELECTASIS/OBSTRUCTIVE PNEUMONITIS EXTENDING TO HILAR REGION (Note 3)

- Present Absent Not assessable

MAXIMUM TUMOUR DIMENSION (Note 4)

TUMOUR INVOLVES MAIN BRONCHUS

- Not applicable Not identified
 Not assessable Present

TUMOUR INVOLVES CARINA (Note 5)

- Not applicable Not identified
 Not assessable Present

HISTOLOGICAL TUMOUR TYPE (Note 6)

(Value list from the World Health Organisation Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. (2015)) (select all that apply)

- Squamous cell carcinoma Carcinoid
 Keratinizing Typical
 Non-keratinizing Atypical
 Basaloid
 Large cell neuroendocrine carcinoma
 Large cell carcinoma
 Small cell carcinoma
 Adenocarcinoma

Classification of Adenocarcinoma

- Adenocarcinoma in situ (AIS)
 Non-mucinous Mucinous
 Minimally invasive adenocarcinoma (MIA)
 Non-mucinous Mucinous
 Invasive adenocarcinoma

PREDOMINANT PATTERN

- Lepidic Acinar Papillary Micropapillary
 Solid Invasive mucinous
 Colloid Fetal
 Enteric

OTHER PATTERNS (if present)

- TYPE OF PATTERN ⇒
 TYPE OF PATTERN ⇒
 TYPE OF PATTERN ⇒

- Other, *specify*

DISTANCE OF TUMOUR TO CLOSEST RESECTION MARGIN (Note 7)

HISTOLOGICAL GRADE (Note 8)

- Well differentiated
- Moderately differentiated
- Poorly differentiated
- Undifferentiated
- Not applicable

RESPONSE TO NEOADJUVANT THERAPY (Note 9)

- Not applicable
- Less than 10% residual viable tumour
- Greater than 10% residual viable tumour
- Treatment history not known

DIRECT INVASION OF ADJACENT STRUCTURES (Note 10)

(select all that apply)

- Trachea
- Chest wall
- Diaphragm
- Oesophagus
- Heart
- Great vessels
- Vertebral body
- Phrenic nerve
- Mediastinum
- Mediastinal fat
- Mediastinal pleura
- Parietal pericardium
- Recurrent laryngeal nerve
- Not identified
- Not applicable

LYMPHOVASCULAR INVASION (Note 11)

- Present
- Not identified
- Indeterminate

VISCERAL PLEURAL INVASION (Note 12)

- Present
- Not identified
- Indeterminate
- Cannot be assessed



Extent of pleural involvement (Note 13)

- PL1
- PL2
- PL3

PERINEURAL INVASION

- Present
- Not identified
- Indeterminate

OTHER NEOPLASTIC PROCESSES

(e.g. tumourlets, NEH, AAH, dysplasia)

NON-NEOPLASTIC LUNG DISEASE

SURGICAL MARGIN STATUS (Note 14)

Bronchial margin

- Involved by invasive carcinoma
- Involved by carcinoma in situ only
- Only peribronchial soft tissue involved
- Not involved
- Not applicable

Vascular margin

- Involved
- Not involved
- Only perivascular soft tissue involved
- Not applicable

Other margin 1 (specify e.g. parenchymal, chest wall)

- Involved
- Not involved
- Not applicable

Other margin 2 (specify e.g. parenchymal, chest wall)

- Involved
- Not involved
- Not applicable

LYMPH NODES STATUS (Note 15)

Station(s) examined, specify

- Not involved
- Involved by micrometastasis only
- Involved

Involved station 1

Number of involved lymph nodes

Total number of lymph nodes from this site

- Number cannot be determined

Involved station 2

Number of involved lymph nodes

Total number of lymph nodes from this site

- Number cannot be determined

Involved station 3

Number of involved lymph nodes

Total number of lymph nodes from this site

- Number cannot be determined

ANCILLARY STUDIES

Immunohistochemical markers (Note 16)

Positive Abs	
Negative Abs	
Equivocal Abs	

Conclusions:

--

Molecular data (Note 17)

EGFR result

Mutation absent Result indeterminate

Mutation present



Describe

--

EML4-ALK result

Rearrangement absent Result indeterminate

Rearrangement present



Describe

--

Other, specify

Test	Result

PATHOLOGICAL STAGING (TNM 8th edition)## (Note 18)

- m - multiple primary tumours at a single site
 r - recurrent tumours after a disease free period
 y - classification is performed during or following multimodality treatment

T - Primary tumour

- TX Primary tumour cannot be assessed, or tumour proven by the presence of malignant cells in sputum or bronchial washings but not visualized by imaging or bronchoscopy.
- T0 No evidence of primary tumour
- Tis Carcinoma in situ^a
- T1 Tumour 3 cm or less in greatest dimension, surrounded by lung or visceral pleura, without bronchoscopic evidence of invasion more proximal than the lobar bronchus (i.e., not in the main bronchus)^b
- T1mi Minimally invasive adenocarcinoma^c
- T1a Tumour 1 cm or less in greatest dimension^b
- T1b Tumour more than 1 cm but not more than 2 cm in greatest dimension^b
- T1c Tumour more than 2 cm but not more than 3 cm in greatest dimension^b
- T2 Tumour more than 3 cm but not more than 5 cm; or tumour with any of the following features^d
- Involves main bronchus regardless of distance to the carina, but without involvement of the carina
 - Invades visceral pleura
 - Associated with atelectasis or obstructive pneumonitis that extends to the hilar region either involving part of or the entire lung.
- T2a Tumour more than 3 cm but not more than 4 cm in greatest dimension.
- T2b Tumour more than 4 cm but not more than 5 cm in greatest dimension.
- T3 Tumour more than 5 cm but not more than 7 cm in greatest dimension or one that directly invades any of the following: parietal pleura, chest wall (including superior sulcus tumours) phrenic nerve, parietal pericardium; or separate tumour nodule(s) in the same lobe as the primary.
- T4 Tumour more than 7 cm or of any size that invades any of the following: diaphragm, mediastinum, heart, great vessels, trachea, recurrent laryngeal nerve, oesophagus, vertebral body, carina; separate tumour nodule(s) in a different ipsilateral lobe to that of the primary.

N - Regional lymph nodes

- NX Regional lymph nodes cannot be assessed
- N0 No regional lymph node metastasis
- N1 Metastasis in ipsilateral peribronchial and/ or ipsilateral hilar lymph nodes and intrapulmonary nodes, including involvement by direct extension
- N2 Metastasis in ipsilateral mediastinal and/ or subcarinal lymph node(s)
- N3 Metastasis in contralateral mediastinal, contralateral hilar, ipsilateral or contralateral scalene, or supraclavicular lymph node(s)

M - Distant metastasis

- Not applicable
- M0 No distant metastasis
- M1 Distant metastasis
- M1a Separate tumour nodule(s) in a contralateral lobe; tumour with pleural or pericardial nodules or malignant pleural or pericardial effusion^e
- M1b Single extrathoracic metastasis in a single organ^f
- M1c Multiple extrathoracic metastasis in a single or multiple organs

- a. Tis includes adenocarcinoma in situ and squamous carcinoma in situ.
- b. The uncommon superficial spreading tumour of any size with its invasive component limited to the bronchial wall, which may extend proximal to the main bronchus, is also classified as T1a.
- c. Solitary adenocarcinoma (not more than 3 cm in greatest dimension), with a predominantly lepidic pattern and not more than 5 mm invasion in greatest dimension in any one focus.
- d. T2 tumours with these features are classified T2a if 4 cm or less, or if size cannot be determined and T2b if greater than 4 cm but not larger than 5 cm.
- e. Most pleural (pericardial) effusions with lung cancer are due to tumour. In a few patients, however, multiple microscopic examinations of pleural (pericardial) fluid are negative for tumour, and the fluid is non-bloody and is not an exudate. Where these elements and clinical judgment dictate that the effusion is not related to the tumour, the effusion should be excluded as a staging descriptor.
- f. This includes involvement of a single non-regional node.

Reproduced with permission. Source: Brierley JD, Gospodarowicz MK and Wittekind C (eds) (2016). UICC TNM Classification of Malignant Tumours, 8th Edition, Wiley-Blackwell.

Za podporu vydání guideline děkujeme společnostem:



MSD



MERCK