

VÝZNAM IMUNOHISTOCHEMICKÉHO VYŠETŘENÍ PŘI DETEKCI METASTÁZ V SENTINELOVÝCH UZLINÁCH KARCINOMU PRSU

Vladimír Červinka¹, Karel Šťastný^{1,2}, Lukáš Nechvátal¹, Arnošt Pellant¹, Aleš Ryška³

¹ Chirurgická klinika, Fakulta zdravotnických studií Univerzity Pardubice

² Mamologie, s.r.o., Pardubice

³ Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN, Hradec Králové

Cílem práce bylo stanovit význam imunohistochemického (IHC) vyšetření při detekci metastáz v sentinelových uzlinách u pacientek s karcinomem prsu. Celkově bylo za 26 měsíců na chirurgické klinice v Pardubicích provedeno 143 biopsií sentinelových uzlin. Detekce metastáz v sentinelových uzlinách byla prováděna pomocí semisériového histologického vyšetření hematoxylin-eosinem (H&E) ve všech 143 případech. Pokud toto vyšetření bylo negativní (ve 111 případech), bylo následně provedeno IHC vyšetření pomocí protilátky proti širokému spektru cytokeratinů (AE1/AE3). Z výsledků vyplývá, že IHC nezvyšuje záchyt makrometastáz, zvyšuje však záchyt mikrometastáz o 1,8 % a submikrometastáz o 9,9 %.

Klíčová slova: sentinelová uzlina, karcinom prsu, hematoxylin, eosin, histologie, imunohistochemické vyšetření, submikrometastázy.

IMPORTANCE OF IMMUNOHISTOCHEMICAL EXAMINATION IN DETECTING METASTASES IN SENTINEL LYMPH NODES IN BREAST CANCER WOMEN
The aim of the study was to assess importance of immunohistochemical (IHC) examination of sentinel lymph nodes in women with breast cancer. Totally, there were 143 patients operated at the Department of Surgery in Pardubice during 26 months. Sentinel nodes were examined by multilevel sectioning in 2 mm intervals. Each tissue block was examined by semi-serial sectioning by hematoxylin-eosin (H&E) in all 143 cases; in case of negative result (111 cases), IHC examination with the anti-cytokeratin antibody (AE1/AE3) was performed. IHC examination does not improve detection of macrometastases, however, it can increase detection of micrometastases (by 1,8 %), as well as submicrometastases (by 9,9 %).

Key words: sentinel lymph node, breast cancer, hematoxylin, eosin, immunohistochemical examination, submicrometastases.

Onkológia (Bratisl.), 2008, roč. 3 (4): 268–269

Úvod

Axilární staging je zásadním prognostickým faktorem přežití žen s karcinomem prsu (1–3). V posledních letech se metoda detekce sentinelové uzliny stává alternativou disekci axily při stanovení stagingu časných forem karcinomu prsu. Sentinelová uzlina je tradičně definována jako první spádová uzlina v lymfatickém povodí tumoru. Podrobné zhodnocení sentinelové uzliny poskytne dostatečné množství materiálu ke stanovení správného stagingu, na druhou stranu redukuje počet komplikací spojených s disekcí axily (4–5).

Cíl práce je stanovit, zda imunohistochemické vyšetření sentinelových uzlin zlepší detekci metastáz sentinelových uzlin u karcinomu prsu.

Materiál a metodika

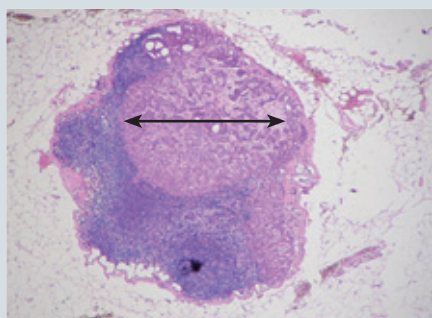
Prospektivní studie Fakulty zdravotnických studií Univerzity Pardubice – Chirurgické kliniky a Fingerlandova ústavu patologie LF UK a FN v Hradci Králové zahrnovala pacientky operované v období od března 2006 do konce dubna 2008.

Sentinelové uzliny byly detekovány za použití kombinace technik barevného mapování pomocí blue patentné a radionavigační metody pomocí ra-

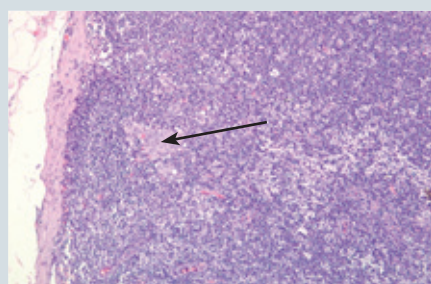
diokoloidu technecia Tc99. Byl použit dvoudenní protokol při aplikaci Tc 99.

Histopatologické vyšetření sentinelových uzlin bylo prováděno tak, že každá uzlina byla rozkrájena ve 2 mm intervalech a v každém bloku bylo provedeno semi-sériové vyšetření hematoxylinem-eosinem ve 3–5 úrovních s odstupem 100 mikrometrů. V případě negativity vyšetření bylo následně provedeno IHC vyšetření pomocí protilátky proti širokému spektru cytokeratinů (AE1/AE3). Následně bylo hodnoceno, jak se změnilo hodnocení sentinelové uzliny při použití imunohistochemického vyšetření (a tedy i staging nemocné).

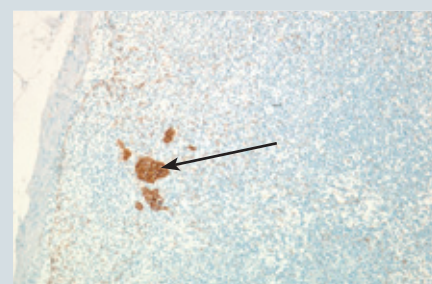
Obrázek 1. Makrometastáza karcinomu prsu v sentinelové uzlině. Obarveno HE.



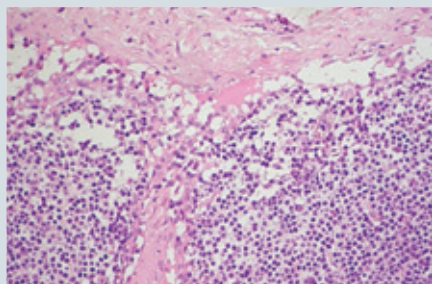
Obrázek 2. Mikrometastáza karcinomu prsu v sentinelové uzlině. Obarveno HE.



Obrázek 3. Submikrometastáza obarvena imunohistochemicky.



Obrázek 4. Detail subkapsulárního sinu obarveného HE bez známek metastáz.



Dle American Joint Committee on Cancer (AJCC) se metastázy v uzlinách dělí do 3 kategorií: metastázy nad 2 mm jsou klasifikovány jako makrometastázy (obrázek 1), metastázy menší než 2 mm a větší než 0,2 mm jsou klasifikovány jako mikrometastázy (obrázek 2). Metastázy menší než 0,2 mm jsou klasifikovány jako submikrometastázy, shluky buněk či jednotlivé buňky (obrázek 3).

Výsledky

Celkově bylo za 26 měsíců operováno na Chirurgické klinice v Pardubicích 143 pacientek. Předoperační diagnostika byla provedena ve všech případech pomocí core cut biopsie. Počet sentinelových uzlin byl v rozsahu 1 – 6.

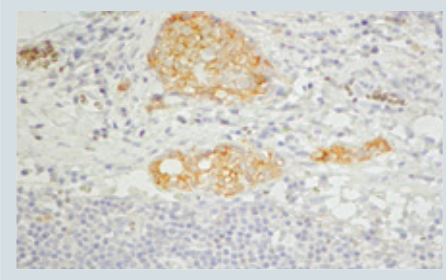
Z celkového počtu 143 zhodnocených pacientek bylo 45 (31,5 %) pacientek klasifikováno jako pozitivní. Z těchto 45 pozitivních mělo 17 (37,8 %) pacientek makrometastázy, 17 (37,8 %) pacientek mikrometastázy a 11 (24,4 %) submikrometastázy.

Pomocí hematoxylin eosinového vyšetření bylo 17 pacientek klasifikováno jako N1 – tedy postižených makrometastázou, a 15 jako N1mi, tedy postižených mikrometastázou. Submikrometastázy nebyly pomocí HE vyšetření nalezeny. Po dalším zhodnocení pomocí IHC vyšetření byly u 2 (1,8 %) pacientek z původně 111 HE negativních detekovány mikrometastázy a u 11 (9,9 %) detekovány submikrometastázy.

Diskuze

Uzliny po disekci axily jsou hodnoceny tak, že se provede centrální řez uzlinou a tento je zhodnocen pomocí hematoxylinu eosinu. Takto je zhodnoceno 10 – 20 uzlin. Při pouhém zhodnocení centrálního řezu lze minout mikrometastázy často lokalizované v oblasti subkapsulárního sinu. Toto vede k understagingu pacientky, jenž má za následek nedostatečnou onkologickou léčbu a ohrožení pacientky na životě. Detailní zhodnocení sentinelových uzlin pomocí sériového zhodnocení ve 2 mm intervalech v kombinaci s imunohistochemickým vyšetřením prakticky tuto chybu vylučuje (obrázky 4, 5). Zdravotní pojišťovny nehradí sériové a imunohistochemické vyšetření uzlin získaných při kompletní disekci axily. Hradí

Obrázek 5. Imunohistochemicky obarvený detail subkapsulárního sinu shodný s obrázkem 4 s nálezem submikrometastáz, shluků buněk a izolovaných buněk.



však sériové a imunohistochemické vyšetření sentinelových uzlin. Minimalizace komplikací spojených s detekcí sentinelové uzliny a zajištění detailního histopatologického zhodnocení sentinelové uzliny umožňuje odpovídající následnou onkologickou léčbu při zachování miniinvasivity.

Z našich výsledků vyplývá, že v kategorii N1 jsou makrometastázy detekovány stejně pomocí hematoxylin eosinového vyšetření jako pomocí IHC vyšetření. V kategorii N1mi zvyšuje IHC vyšetření nález mikrometastáz o 1,8 %. V kategorii submikrometastáz IHC vyšetření zvyšuje záchyt o 9,9 %. Pokud porovnáme naše výsledky se zahraničními studiemi, nacházíme podobné závěry. Dle těchto studií (6 – 8) způsob sériového vyšetření sentinelové uzliny v kombinaci s IHC vyšetření uzlin zvyšuje záchyt mikrometastáz a submikrometastáz o 9 – 32 %.

PCR metodiku detekce mikro- a submikrometastáz vzhledem k vysoké falešné pozitivitě, ceně a dostupnosti tohoto vyšetření (9, 10, 11) nepovažujeme v současnosti za přínosnou s ohledem na další onkologickou léčbu.

Literatura

1. Fisher B, Bauer M, Wickerham DL. Relationship of number positive axillary nodes to the prognosis of the patient with primary breast cancer. *Cancer* 1983; 52:1551–1557.
2. Fisher ER, Anderson S, Redmond C, Fisher B. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project protocol B-06:10 year pathologic and prognostic discriminants. *Cancer* 1993; 71: 2507–2514.
3. Siziopikou KP, Schnitt SJ, Connolly JL. Detection and significance of occult axillary metastatic disease in breast cancer patients. *Breast J* 1999; 5: 221–229.
4. Giuliano AE, Jones RC, Brennan M. Sentinel lymphadenectomy in breast cancer. *J Clin Oncol.* 1997; 15: 2345–2350.
5. Pfeiffer JD. Sentinel Lymph Node Biopsy. *Am J Clin Pathol.* 1999; 112: 599–602.
6. International/Ludwig/Breast Cancer Study Group. Prognostic importance of occult axillary lymph node micrometastases from breast cancer. *Cancer* 1978; 335: 1565–1568.
7. De Mascarelli, Bonichon F, Coindre JM. Prognostic significance of breast cancer axillary lymph node micrometastases assessed by two special techniques: reevaluation with longer follow up. *Br J Cancer* 1992; 66: 523–527.
8. Hainsworth PJ, Tjandra JJ, Stillwell RG. Detection and significance of occult metastases in node negative breast carcinoma. *Br J Surgery* 1993; 80: 459–463.
9. Ko Y, Grunewald E, Totzke G. High percentage of false positive results of cytokeratin 19 RT-PCR in blood: A model for analysis of illegitimate gene expression. *Oncology* 2000; 59: 81–88.
10. Washer RA. Pitfalls in the use of RT-PCR as a prognostic indicator in melanoma. *J Clin Oncol.* 2005; (23/16): 3863–3864.
11. Havlíček K, Šácha M, Šiller J. K-ras mutace u kolorektálního karcinomu jako prognostický faktor vývoje onemocnění. *SK Chir.* 2005; 3: 8–12.
12. Menes TS, Tartter PI, Mizrahi H. Breast cancer patients with pN0(i+) and pN1(mi) sentinel nodes have high rate of nonsentinel node metastases. *J Am Coll Surg* 2005; 200: 323–327.
13. Gipponi M, Canavese G, Lionetto R. The role of axillary lymph node dissection in breast cancer patients with sentinel lymph node micrometastases. *Eur J Surg Oncol* 2006; 32: 143–147.
14. Bolster MJ, Bult P, Schapers RF. Differences in sentinel lymph nodes pathology protocols lead to differences in surgical strategy in breast cancer patients. *Ann Surg Oncol.* 2006; 13: 1466–1473.
15. Gray RJ, Pockaj BA, Conley CH. Sentinel lymph node metastase detected by immunohistochemistry only do not mandate complete axillary lymph node dissection in breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2004; 11: 1056–1060.
16. Rutgers E.J.T. Sentinel Lymph Node Biopsy: Interpretation and Management of Patients with Immunohistochemistry-Positive Sentinel Nodes and Those with Micrometastases. *J Clin Oncol* 2008 10; 26(5): 698–702.

Jednoznačně v současné době panuje shoda, že u každé pacientky s nálezem makrometastázy byt v jedné uzlině při sentinelové biopsii je nutno provést disekci axily.

Na provádění disekce axily po nález submikrometastáz nepanuje jednoznačný názor. Dle některých autorů je nutno provést kompletní disekci axily, neboť přítomnost cytokeratin pozitivních buněk v sentinelových uzlinách karcinomu prsu charakterizovaných jako N0(+) či N1(mi+) je spojena s 4 – 20 % pozitivitou nonsentinelových uzlin při HE vyšetření (12, 13, 14). Dle některých autorů kompletní disekce axily není nutná (15, 16) a dle některých autorů je disekce axily indikována pokud součet všech mikrometastáz překročí 1 mm. Vzhledem k tomu, že při nález N0 (+) a N1(mi+) je riziko understagingu, a tím i nedostatečné léčby těchto pacientek, na našem pracovišti disekci axily při nález submikrometastáz provádíme.

Závěr

Sériové imunohistochemické vyšetření sentinelových uzlin zvyšuje nález mikrometastáz i nález submikrometastáz. Tento postup by měl být standardní na všech pracovištích zabývajících se detekcí sentinelové uzliny. Eliminuje možnost understagingu u pacientek s karcinomem prsu.

MUDr. Vladimír Červinka

Chirurgická klinika Pardubice
Kyjevská 44, 532 03 Pardubice
e-mail: cervinka@nem.pce.cz