

Doporučený postup  
pro histologické vyšetření  
**karcinomu plic**



---

Úvod	<b>3</b>
Cytologické vyšetření	<b>4</b>
Makroskopické vyšetření resekátu	<b>4</b>
Dlaždicobuněčný karcinom	<b>7</b>
Adenokarcinom	<b>8</b>
Neuroendokrinní tumory plic	<b>12</b>
Ostatní méně časté jednotky	<b>14</b>
Imunohistochemické (IHC) vyšetření u malých biopsií	<b>18</b>
Molekulární genetika plicních nádorů	<b>20</b>
Literatura	<b>22</b>

---



# Úvod

Jen málokterá oblast patologie prodělává v poslední době tak dynamický rozvoj jako klasifikace nádorů plic. Tyto změny jsou podmíněny na jedné straně novými poznatky v oblasti molekulární patogeneze (úloha jednotlivých patogenních mutací ve vzniku a rozvoji nádorů) a na druhé straně rozšiřujícími se možnostmi morfologické diagnostiky podepřené dalšími, doplňkovými metodami, zejména imunohistochemií. Na straně třetí je to vývoj nových léčiv, která přímo zasahují do karcinogeneze plicních nádorů a dávají potenciální šanci zlepšit prognózu jinak velmi obtížně léčitelných onemocnění.

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 gene-

tická subtypizace (identifikace aktivačních mutací genu EGFR či přestavby genu ALK a potenciálně dalších). Platí, že oba dva přístupy – tj. přesné morfologické zařazení nádoru i průkaz specifických genetických změn – 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 stanovení správné a komplexní diagnózy odpovídající potřebám pneumoonkologa pro volbu adekvátní léčby jednotlivých pacientů.



## Cytologické vyšetření

Cytologie je dlouhodobě jednou ze základních morfolo- gických metodik v diagnostice karcinomu plic. Dokud bylo dostačujícím kritériem rozdělení plicních karcinomů na malobuněčný karcinom a skupinu nemalobuněčných karcinomů, bylo toto vyšetření plně dostačující. Pokud je cytologické vyšetření doplněno reprezentativním cyto- blokem, je dostačující pro diagnózu i v současnosti, navíc významně stoupá jeho výtěžnost. Cytoblok se zhotovuje fixováním části odebraného materiálu ve formalínu (např. z kartáčkového stěru jsou zhotoveny dva nátěry, zbytek materiálu z kartáčku je vyklepán v malém množství for- malínu) a následným zpracováním podobně jako u biop- sie do parafínového bloku, který pak lze využít pro další dodatečné metody, zejména imunohistochemii.

Diagnostiku je nutno provádět v úzké korelaci nálezů cy- tologického s nálezem v cytobloku – pokud je dobře dia- gnostický cytologický materiál (není pochybnosti o ma- lignitě procesu), stačí k definitivnímu zařazení tumoru i poměrně malé množství struktur zachycených v imuno- histochemickém vyšetření. Malé množství materiálu je ale také úskalím metody; vždy je třeba, abychom si byli jisti, že výsledky imunohistochemie jsou hodnoceny na nádoro- vých strukturách (protože např. p63 je pozitivní i na bazál- ní vrstvě respiračního epitelu). Diagnostika se řídí stejnými pravidly jako v endobiopsiích a jiných malých vzorcích, z povahy vyšetření plyne, že tumory, které by z endobio- psie byly odečteny jako „dlaždicobuněčný karcinom“ nebo „adenokarcinom“, budou častěji řazeny do kategorií „NSCLC spíše dlaždicobuněčný“, resp. „NSCLC spíše ade- nokarcinom“. Tato drobná nepřesnost však nemá terapeu- tický význam. Materiál z cytologie lze vyšetřit geneticky, pro metody PCR lze s výhodou použít nátěr (s označením partií s nádorovými strukturami morfologem, nikoliv bez- výběrovým užitím cytologického preparátu), pro in situ hybridizační metody je vhodnější cytoblok; zde může být

limitující malé množství zachycených struktur (nedosta- tečný počet buněk na hodnocení).

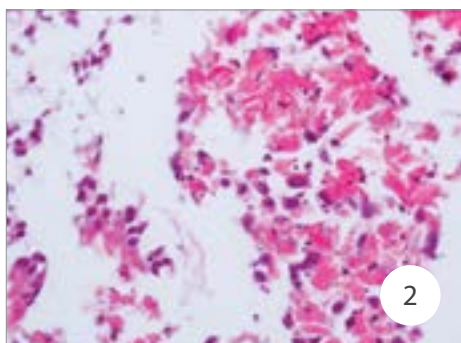
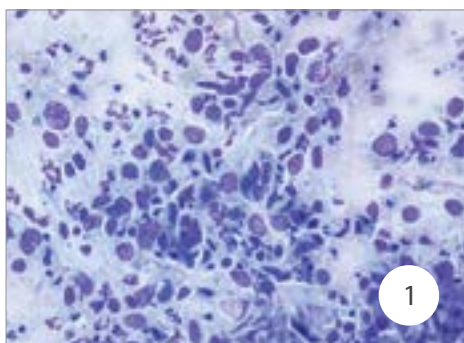


Bioptické a cytologické vzorky ze stejné léze by opti- málně měly být vyšetřovány společně, což může na- pomoci co nejpřesnější diagnóze a výrazně to zvyšuje diagnostickou výtěžnost. Důležité je, aby z veškerého cytologického materiálu včetně pleurálních punkcí byly vždy, kdy to je možné, připraveny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

## Makroskopické vyšetření resekátu

### Makroskopický popis resekční biopsie plic:

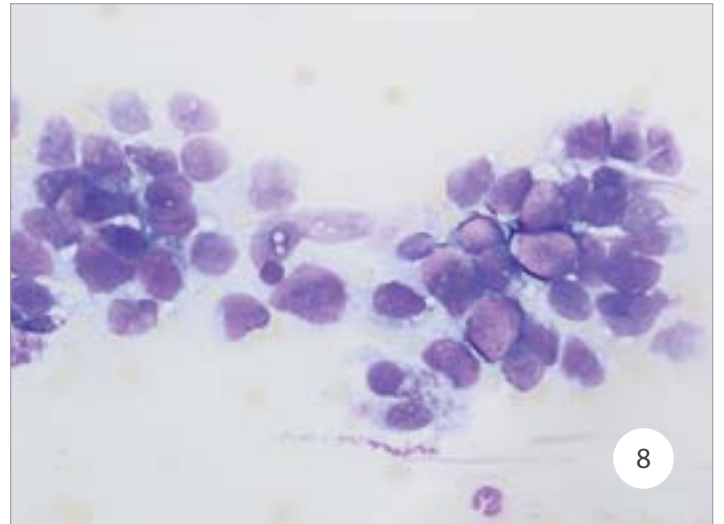
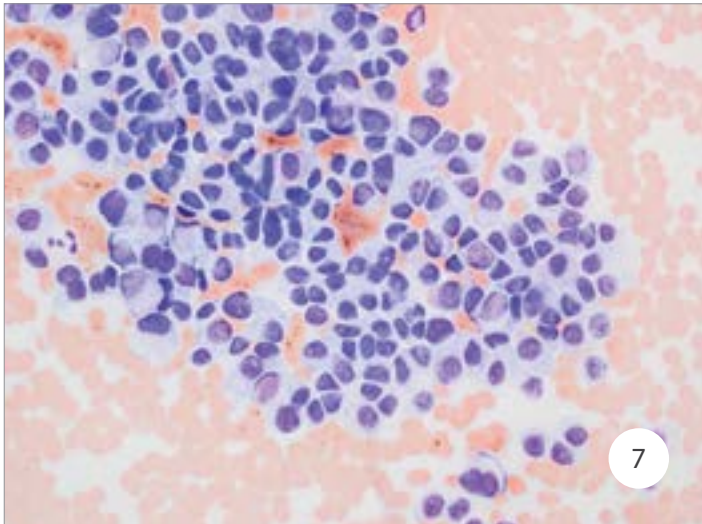
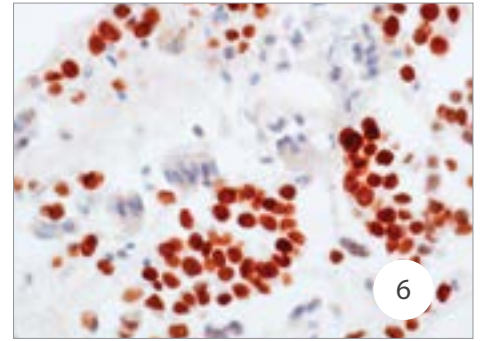
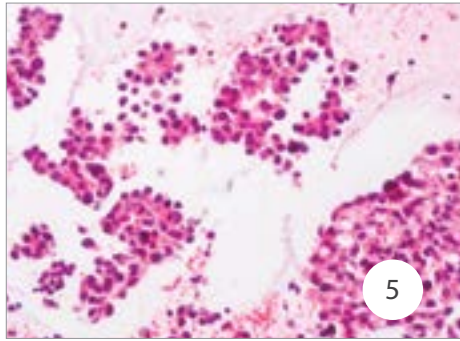
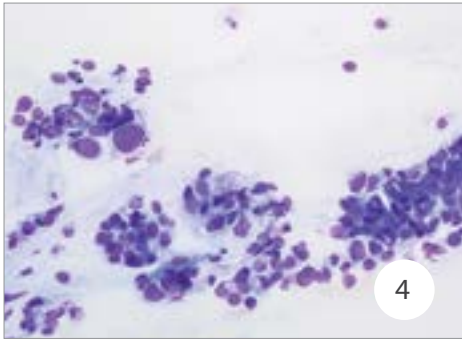
- 1. Typ resekátu** (resekce bronchu, klínovitá resekce, seg- mentektomie, lobektomie, bilobektomie, pulmonekto- mie a jiné).
- 2. Rozměry vzorku**, popř. hmotnost.
- 3. Cílený popis změn:**
  - celistvost resekátu (bez poškození, zhmožděný, rozdělený);
  - pleura (retrakce, kolorit, ložiskové změny, adheze);
  - resekční linie (bronchus, parenchym);
  - nádorové ložisko (lokalizace, počet, rozměry a cha- rakter);
  - jiné ložiskové změny parenchymu (lokalizace, roz- měry a charakter);
  - charakter parenchymu mimo oblast ložiskových změn;
  - lymfatické uzliny (počet, lokalizace, velikost, makro- skopické změny).



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

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

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

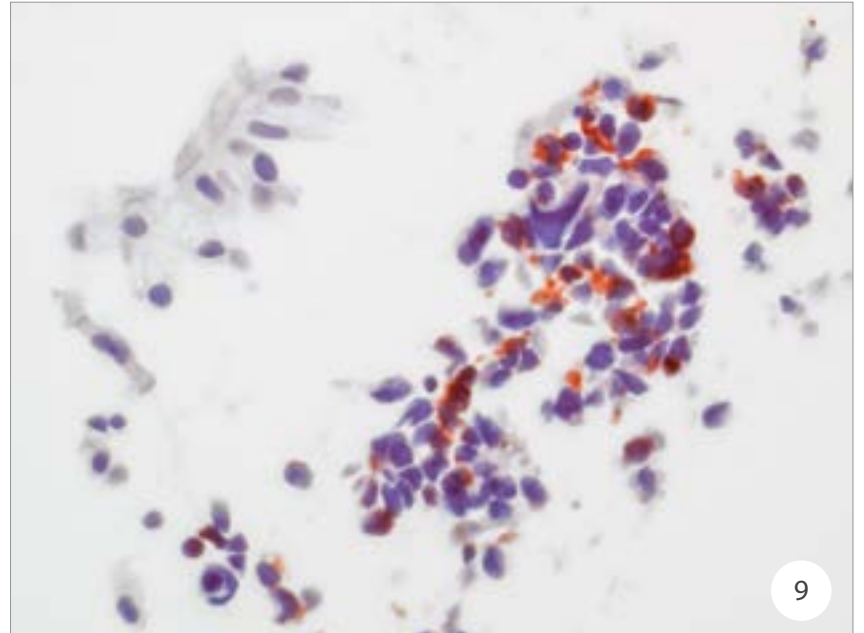


4 – Adenokarcinom – cytologický nátěr barvený dle Giemsy. Nádorové buňky vykazují výraznou anizokaryózu, jejich cytoplazma je poměrně bohatá, místy až s náznaky hlenotvorby

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

6 – Adenokarcinom – cytoblok s imunohistochemickým průkazem TTF-1

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



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

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



## Nález musí obsahovat závěr, kde jsou specifikovány tyto údaje:

### 1. Histologický typ nádoru vyjádřený kódem ICD

- v případě adenokarcinomu i subtypizace jednotlivých složek a jejich procentuální zastoupení;
- průkaz, že jde o primární plicní adenokarcinom (TTF-1, napsin A).

### 2. Grade (1–3).

### 3. Stage vyjádřený kategorií pTNM.

*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 bronchu 20 mm od kariny\*;
- postižení hlavního bronchu méně než 20 mm od kariny, avšak nepostihující karinu\*;
- šíření nádoru na okolní struktury – postižení kariny, parietální pleury, stěny hrudní, bránice, mediastinální pleury, nervus phrenicus, srdce, velkých cév, trachey, páteře, popř. jiných struktur.

\* Posouzení vztahu nádoru ke karině, byť je vyžadováno TNM klasifikací, je v naprosté většině případů nemožné, protože karina v resekátu nebývá přítomna.

*V kategorii N je vhodné blíže upřesnit:*

- celkový počet vyšetřených uzlin/počet postižených uzlin (největší rozměr metastázy);
- lokalizaci.

*V kategorii M je vhodné blíže upřesnit:*

- počet metastatických ložisek a jejich rozměry;
- lokalizaci;
- je nutné co možná nejpodrobněji odlišit histomom-

logní 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 indikována)**, vyjádřené procentuálně rozsahem regresivních změn.

## Poznámky

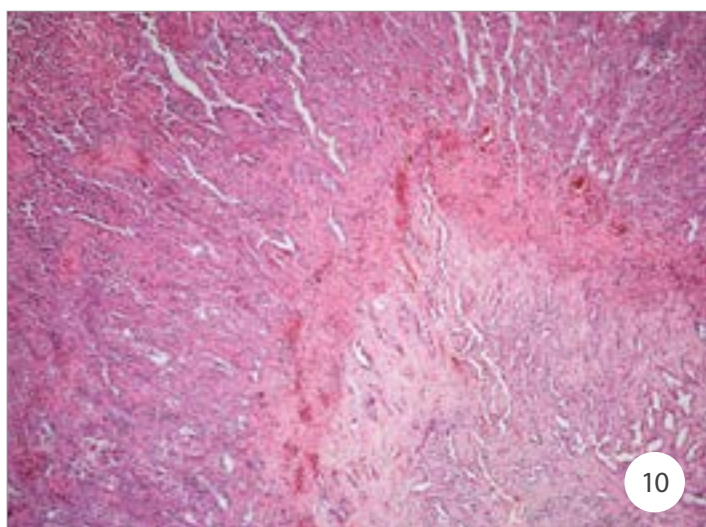
### Lymfatické uzliny

- 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, popsáných nádobách s označením lokality odběru.

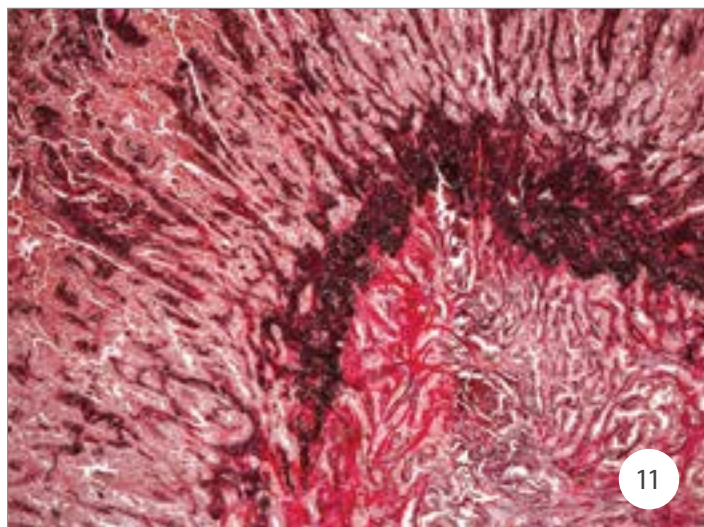
### Anatomická klasifikace – lokality LU (značeno číslem a dle laterality písmenem L nebo R)

*Supraklavikulární zóna:*

1. dolní cervikální, supraklavikulární, sternální
- Horní mediastinální uzliny:*
2. horní paratracheální
  3. prevaskulární (3A) a retrotracheální (3P)
  4. dolní paratracheální



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



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

**Aortální uzliny:**

5. subaortální (uzliny laterálně od ligamentum arteriosum)
6. paraaortální
7. subkarinální
8. paraezofageální
9. ligamentum pulmonale

**Uzliny N1:**

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 plíce spadá do kategorie pT4.

Ložisko identického nádoru v laloku kontralaterální plíce spadá do kategorie pM1a.



V příloze naleznete materiál publikovaný mezinárodní organizací International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR). Ve formě zaškrtávacího formuláře (checklistu) je zde zpracován strukturovaný report histologického vyšetření chirurgického vzorku s karcinomem plic. Domníváme se, že tento dokument by mohl sloužit jako inspirace pro naše potřeby, a lze z něj čerpat při tvorbě individuálních výsledkových protokolů vytvářených na jednotlivých pracovištích.

**Dlaždicobuněčný karcinom**

Většina dlaždicobuněčných karcinomů vzniká centrálně. Jejich prekurzorovou lézí je dysplazie metaplastického dlaždicového epitelu (dělení na jednotlivé stupně ekvivalentní CIN se zpravidla rutinně neprovádí) a dlaždicobuněčný karcinom in situ. Přítomnost těchto změn, zejména těžké dysplazie, ve vzorku či materiálu z resekčního okraje, je třeba uvádět ve výsledkovém závěru bioptického protokolu. Význam gradingu u invazivního karcinomu je sporný a nemá prokázáný 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 diferenciativně diagnostických možností, zejména solidního adenokarcinomu či mukoepidermoidního karcinomu.

**V malých vzorcích** při jednoznačné dlaždicové morfologii klasifikujeme nález jako dlaždicobuněčný karcinom bez nutnosti doplňování imunohistochemické typizace. U nádorů bez jednoznačných diagnostických znaků dlaždicobuněčného karcinomu, avšak suspektních z tohoto typu nádoru včetně odpovídajících výsledků imunohistochemických vyšetření (CK5/6+, p63+, p40(deltaNp63)+, TTF-1-), se nádor diagnostikuje jako **nemalobuněčný karcinom, nejspíše 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 musejí být dotypizovány užitím speciálních metod. Jedinou výjimkou jsou nepochybné morfologické známky dlaždicobuněčné diferenciace (přesvědčivé rohování či zřetelné „můstky“). I zde se však doporučuje dlaždicobuněčnou diferenciaci potvrdit imunohistochemicky.

V **resekátu** je obvykle diagnóza bezproblémová. Histologické varianty definované WHO zahrnují papilární, světlobuněčný, malobuněčný a bazaloidní karcinom. Varianty v čisté formě jsou vzácné, obvykle obsahují oblasti typického dlaždicobuněčného karcinomu.

**Imunohistochemický profil:** dlaždicobuněčný karcinom exprimuje různé typy cytokeratinů včetně cytokeratinu 5/6. Většina případů je difúzně pozitivní při průkazu p63 a p40. Expres 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 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 CD56. Expres 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.





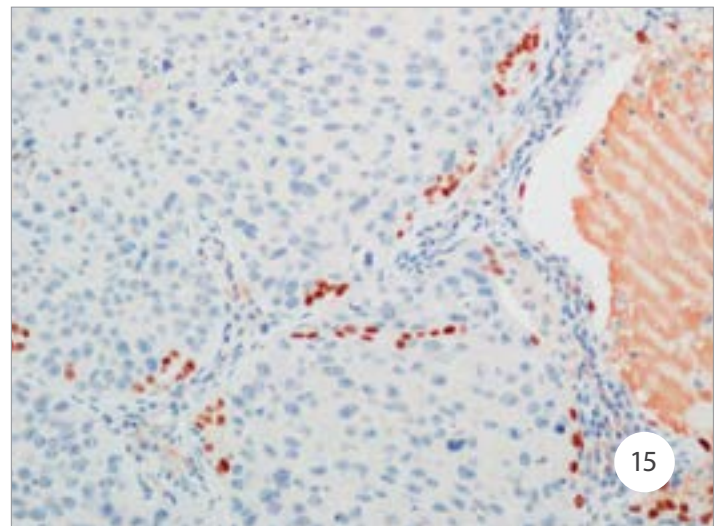
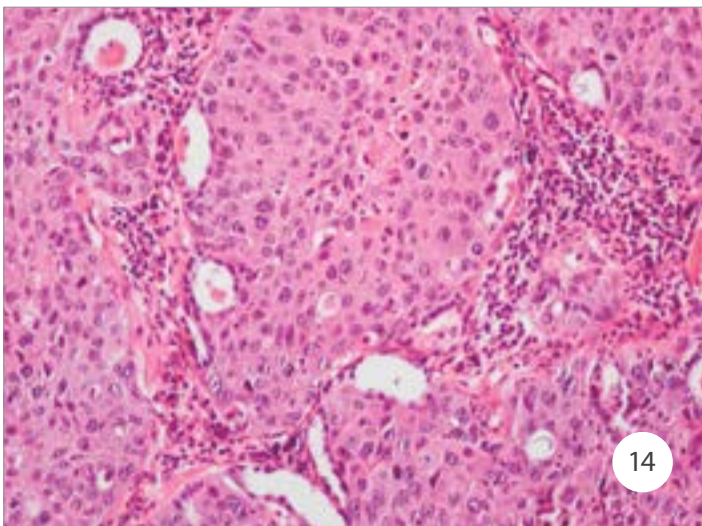
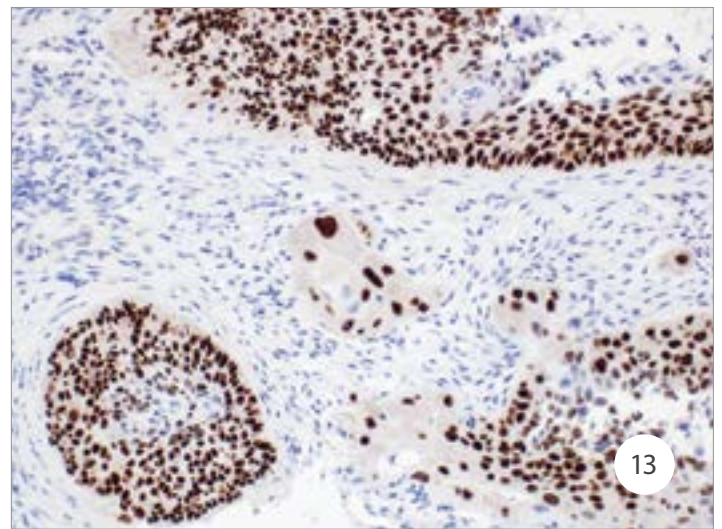
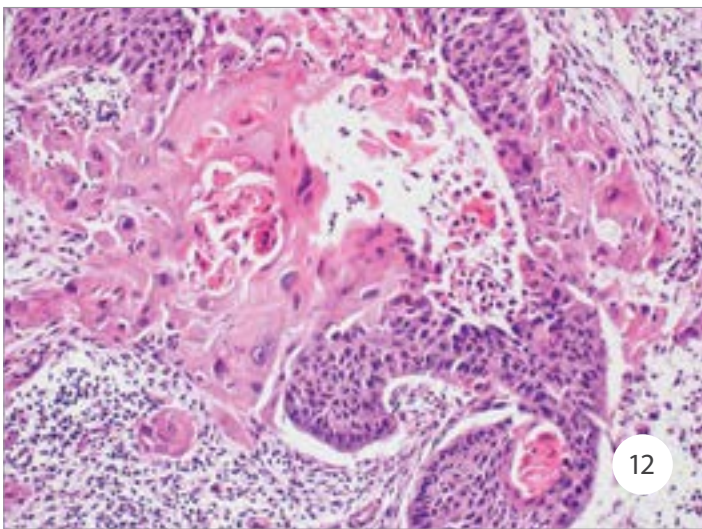
Při pozitivitě NE markerů je nutno rovněž vyloučit (průkazem CD5 a c-kit) možnost metastázy dlaždicobuněčného karcinomu thymu, u kterého bývá koexprese dlaždicobuněčných a NE markerů pravidlem. Také exprese CK7 se u dlaždicobuněčných karcinomů (s jinak typickou difúzní silnou pozitivitou p63) vyskytuje poměrně často a pozitivita tohoto markeru tak sama o sobě nezakládá důvod k zařazení do kategorie NSCLC NOS. 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 imunofeno-

typu 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.

## 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 resekčních výkonech pro invazivní karcinom. Podle doporuče-



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

13 – Jaderná pozitivita p63 v elementech dlaždicobuněčného karcinomu

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

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



ní 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 tabulku na str. 10). Ty 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 resekovaném materiálu. Pokud je neinvazivní 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 diferenciaci však významnou roli hraje také zastoupení histologických subtypů nádoru.

**Diagnóza** plicního adenokarcinomu se opírá o rozpoznání žlázové diferenciaci, která však mnohdy při solidním typu růstu bývá ze standardního barvení hematoxylinem a eozinem nemožná. Napomůže průkaz hleny histochemicky, rozhodující je však imunohistochemická subtypizace umožňující odlišení od dlaždicobuněčného karcinomu či metastatického postižení. Pro odlišení adenokarcinomu a skvamocelulárního karcinomu si každé pracoviště zvolí panel markerů. Nejčastěji používanými markery adenokarcinomu jsou: histochemický průkaz hlenotvorby užitím alcianové modři, imunohistochemické reakce s protilátkami proti TTF-1, napsinu A, surfaktantovému proteinu, cytokeratinu 7. Nejčastěji používanými markery dlaždicobuněčné diferenciaci jsou: imunohistochemické reakce s protilátkami proti p63, p40, cytokeratinu 5/6 a 10. Z literatury plyne, že optimální výtěžnost odlišení adenokarcinomu a dlaždicobuněčného karcinomu při maximální úspoře tkáně je dosažena aplikací protilátek proti TTF-1 a p63, kdy užití ostatních metod je nutné jen v případě nejjasného 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(deltaNp63)–, TTF1+,

CK7+, napsin A+), se nádor diagnostikuje jako **nemalobuněčný karcinom, nejspíše adenokarcinom**.



#### Praktická doporučení pro správné nakládání s malými bioptickými vzorky

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

Termín NSCLC NOS by měl být vyhrazen pouze pro nádory, u nichž není možné stanovit přesnější diagnózu ze základní morfologie ani 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 použity speciální metody.

**V resekátu** více než 90 % plicních adenokarcinomů spadá do kategorie smíšených subtypů podle klasifikace WHO z roku 2004, tato kategorie je však velmi široká a nepřináší dostatečné rozlišení jednotlivých prognosticky odlišných subtypů. Proto je nově doporučeno provádět semikvantitativní hodnocení různých histologických vidů s procentuálním vyjádřením u všech komponent, které v jednotlivém nádoru převýší 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, mucinózní a zejména mikropapilární) a jejich přítomnost proto musí být zdůrazněna.

U pacientů s vícečetnými ložisky plicních adenokarcinomů **pomůže subtypizace** také **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 nevyklučuje (cca 10–15 % případů). Dalšími markery, které se používají pro stanovení primárního plicního původu, jsou napsin A či surfaktantový protein. Jaderná pozitivita p63 různé intenzity se vyskytuje u 20–30 % adenokarcinomů, je však téměř vždy pouze slabá a/nebo fokální. Cytoplazmatická pozitivita p63 podle některých literárních pramenů odpovídá



lepší prognóze nádorů. Více než 30 % adenokarcinomů může exprimovat markery neuroendokrinní diferenciace (synaptofyzin, chromogranin, 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 nádorem původem ze štítné žlá-

zy (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 CDX-2 či různých typů antigenů MUC, metastázy adenokarcinomu prostaty odliší PSA či PSMA, metastázy karcinomu prsu exprese mammaglobinu či hormonálních receptorů (estrogenových a progesteronových). Je třeba mít na paměti, že pozitivita jednotlivých markerů není nikdy 100% senzitivní ani specifická a je třeba provést současnou detekci více markerů.

PREINVAZIVNÍ LÉZE
Atypická adenomatoidní hyperplazie
Adenocarcinoma in situ ( $\leq 3$ cm, dříve BAC)
<i>Nemucinózní</i>
<i>Mucinózní</i>
<i>Smíšený mucinózní/nemucinózní</i>
MINIMÁLNĚ INVAZIVNÍ KARCINOM ( $\leq 3$ cm, predominantně lepidický způsob růstu s $\leq 5$ mm invazí)
<i>Nemucinózní</i>
<i>Mucinózní</i>
<i>Smíšený mucinózní/nemucinózní</i>
INVAZIVNÍ ADENOKARCINOMY
<i>Predominantně lepidický způsob růstu (dříve nemucinózní BAC, s invazí <math>&gt; 5</math> mm)</i>
<i>Predominantně acinární</i>
<i>Predominantně papilární</i>
<i>Predominantně mikropapilární</i>
<i>Predominantně solidní s hlenotvorbou</i>
Varianty invazivního adenokarcinomu
Invazivní mucinózní adenokarcinom (původně mucinózní varianta BAC)
Koloidní
Fetální (low grade a high grade)
Enterický

Klasifikace plicních adenokarcinomů ve vzorcích plicních resektátů navržená dle doporučení IASLC/ATS/ERS





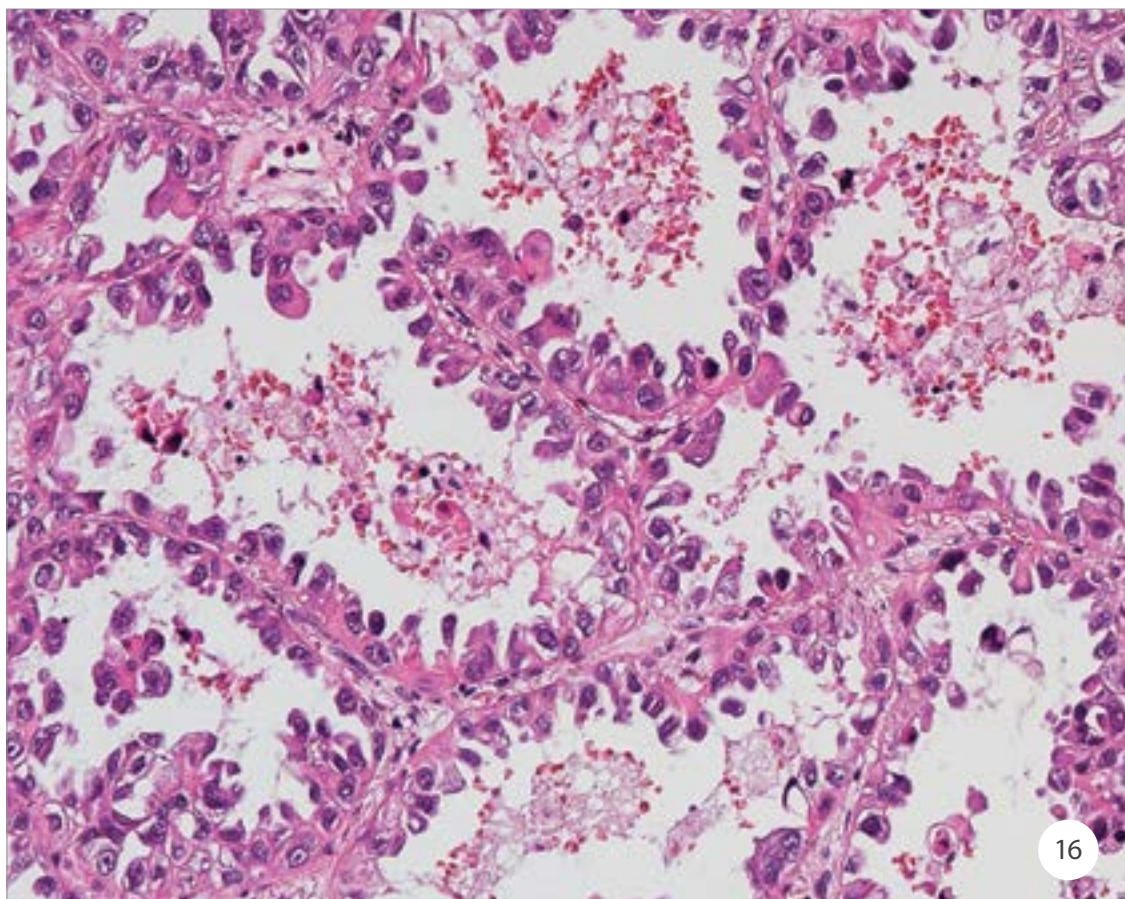
16 – Adenokarcinom – lepidický typ růstu s nádorovými elementy lemujícími alveolární septa

17 – Adenokarcinom s lepidickým typem růstu – mucinózní typ

18 – Adenokarcinom s papilárním typem růstu. V centru papil je patrné fibrovaskulární stroma

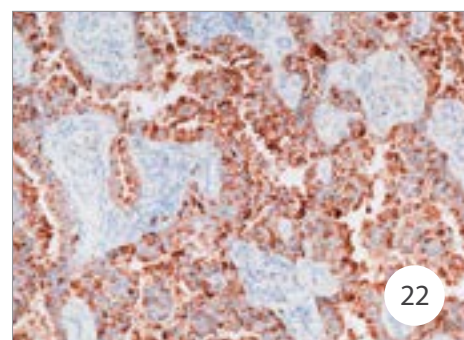
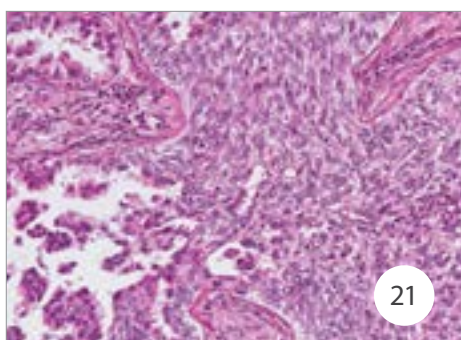
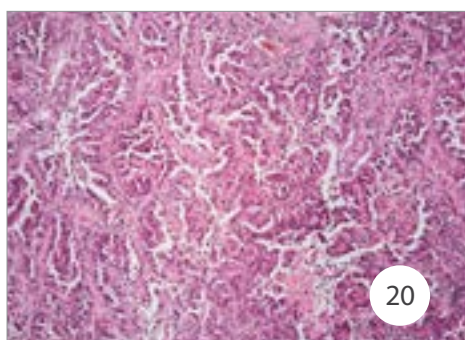
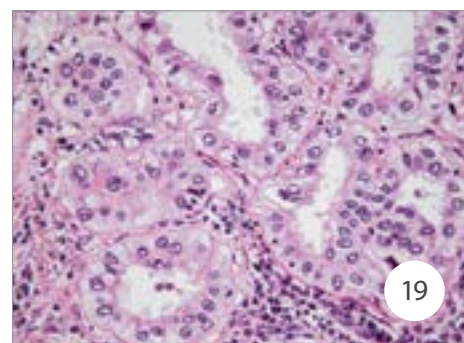
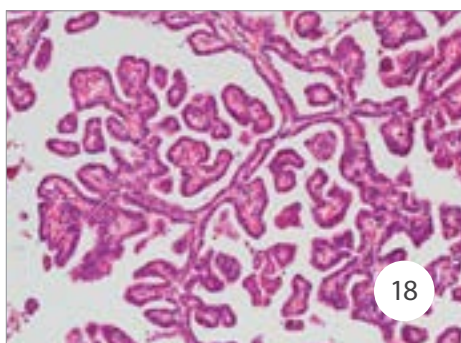
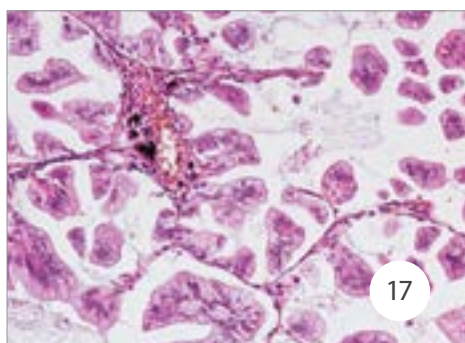
19 – Adenokarcinom s acinárním uspořádáním. Nádorové tubuly na sebe těsně naléhají

20 – Adenokarcinom s mikropapilárním typem růstu. Na rozdíl od papilárně rostoucího karcinomu zde chybí stroma v centru papil. Tento typ růstu je výrazně prognosticky nepříznivý



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

22 – Průkaz exprese napsinu A v adenokarcinomu – silná disperzní cytoplazmatická pozitivita v nádorových buňkách





Kompletní diferenciálně diagnostické schéma pro všechny adenokarcinomy, které mohou do plic metastazovat, je daleko nad rámec tohoto textu.

## 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 morfologie, tj. tvorbě rozet, trabekul, palisádování, krajkovitém a organoidním uspořádání buněk a charakteru 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.

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

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

**Diagnóza** je založena na NE morfologii a doplněna o imunohistochemický průkaz neuroendokrinní diferenciace (chromogranin, synaptofyzin, CD56). Mitotická aktivita nepřekračuje 2 mitózy/10 HPF (2 mm<sup>2</sup>). Nesmějí být přítomny nekrotizace, 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 2 mm<sup>2</sup> a/nebo četných odběrových artefaktech lze stanovit dg. **neuroendokrinního tumoru, nejspíše karcinoidu**, bez rozlišení na typický či atypický. V rozhodování pomůže proliferační aktivita (Ki67), která u TC nepřesahuje 5 %. Z NE markerů je u TC nejčastější pozitivita chromograninu. Výjimečně, např. u transthorakální biopsie, není možné odlišit tumorlet, výsledek je nutno korelovat s klinickým nálezem (např. CT vyšetřením) a je to potřeba zmínit v závěru. Malobuněčný karcinom odliší vysoký počet mitóz, přítomnost nekrotizace a proliferační aktivita. Velkobuněč-

ný karcinom může mít také morfologii podobnou karcinoidu, zásadní je opět mitotická aktivita a přítomnost nekrotizace.

**V resekátu** je obvykle diagnóza bezproblémová. Výjimečně mohou činit obtíže zvláštní histologické typy karcinoidu s onkocytárním, vřetenobuněčným, světlouněčným, 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 negativy CK je vhodné vyšetřit další epiteliální markery (např. EMA, BER-EP4) k odlišení od paragangliomu. Expresí TTF-1 je variabilní, je sice častěji pozitivní u primárních plicních tumorů, nemůže však sloužit jako jednoznačný průkaz plicního původu nádoru (vzácně může být pozitivní např. v NE nádorech GIT). Protein S-100 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 nekrotizace – přítomnost uzlinových metastáz neznamena 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/10 HPF (2 mm<sup>2</sup>), je vyšší proliferační aktivita Ki67. Pokud jsou přítomny nekrotizace, 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 nekrotizace a/nebo odpovídajícím počtu mitóz lze stanovit dg. **neuroendokrinní tumor, nejspíše atypický karcinoid**. Nekrotizace je v malých vzorcích nutno posuzovat vždy obezřetně a zvážit následek ischemie či předchozí terapie. Pomůže i proliferační aktivita Ki67, která se u AC pohybuje mezi 5–20 %. Dosahuje-li v malém vzorku počet mitóz již horní hranice a jsou přítomny nekrotizace, nelze vyloučit LCNEC. Malobuněčný karcinom v malých vzorcích obvykle postrádá NE morfologii a mitotická aktivita je vysoká.

**V resekátu** nebývá diagnóza obtížná. Výjimečně může při karcinoidní morfologii a bez výraznějších nekrotizací 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/10 HPF (2 mm<sup>2</sup>) 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. 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 jadérek. Chromatin je hrubý, koncentrovaný na periférii jádra, jehož velikost zpravidla přesahuje rozměr 3 klidových lymfocytů. Cytoplazma je středně objemná. Morfologicky nejbližší, 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 pozitivit NE markerů se chová obdobně jako LCNEC. O kombinovaných typech LCNEC platí totéž co o kombinovaných typech SCLC.

Poznámka: K expresi NE markerů v jiných nemalobuněčných karcinomech viz komentář níže.

Chováním je LCNEC bližší ostatním nemalobuněčným karcinomům, některé klinické studie však udávají lepší výsledky při použití obdobné terapie jako u SCLC.

**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 jadérek. Proliferační aktivita Ki67 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 obtížné, pozitivita může být pouze tečkovitá. Z neuroendokrinních markerů dává nejlepší výsledky CD56, méně synaptofyzin a chromogranin. 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 p63) a další nížce 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.

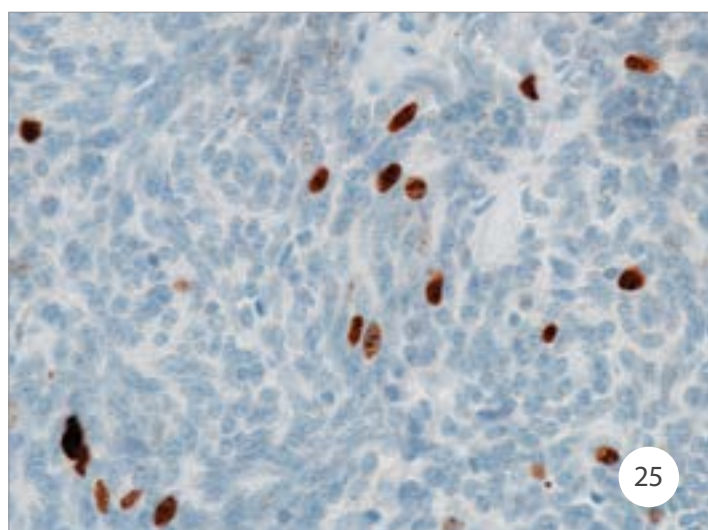
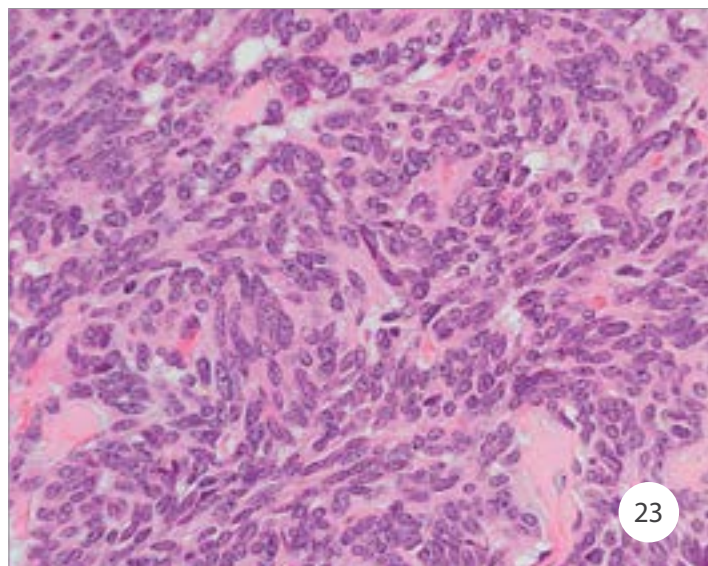
**V resekátu** se s SCLC setkáme výjimečně, vzhledem k odlišnému způsobu léčby a vysoké spolehlivosti diagnózy z endoskopických vzorků, u nichž je shoda 4 hodnotitelů vyšší než 95 %. Velikost buněk v resekátu bývá větší než v malých vzorcích, jejich rozměr však nepřesahuje rozměr 3 klidových lymfocytů. 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 od-



lišit p63. Některé adenokarcinomy po chemoterapii mohou mít malobuněčnou morfolonii, zachovávají si však ostatní vlastnosti, včetně EGFR mutací. Kombinované typy SCLC s LCNEC, velkobuněčným karcinomem, dlaždicobuněčným karcinomem a adenokarcinomem přicházejí cca 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.

Poznámka:

Nemalobuněčné karcinomy (NSCLC) s neuroendokrinní diferenciací jsou nádory bez NE morfologie (tj. skvamózní, adenokarcinom, velkobuněčný) s expresí neuroendokrinních markerů. NE diferenciace u NSCLC zatím nemá terapeutický ani prognostický význam.



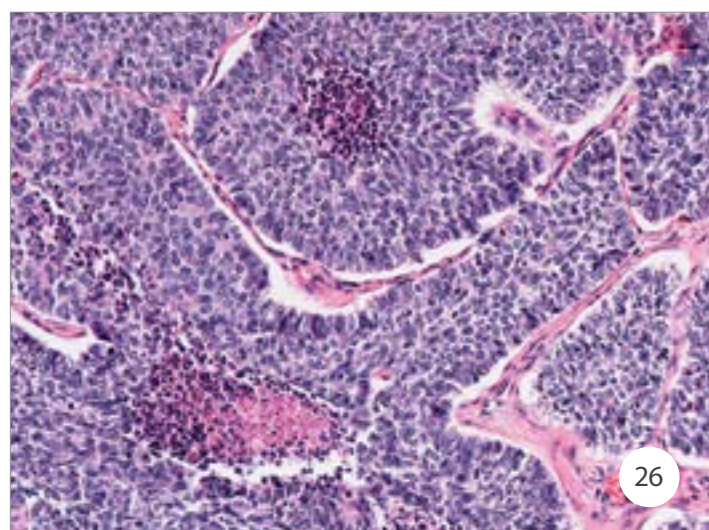
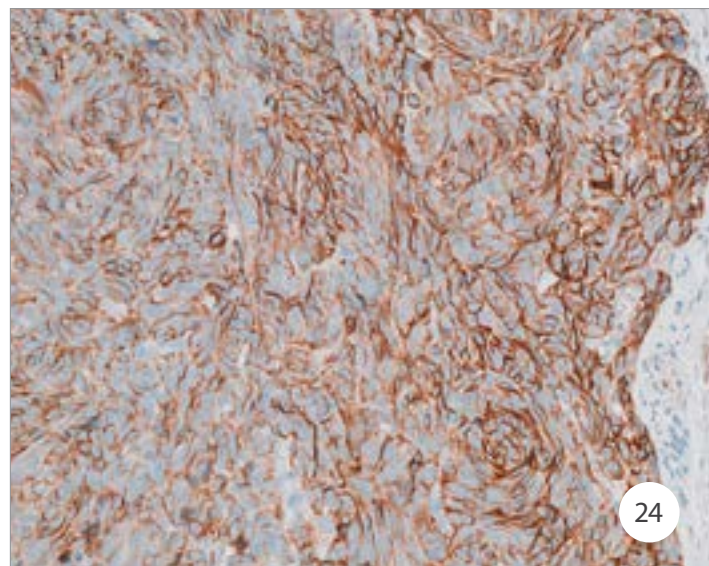
## Ostatní méně časté jednotky

### Velkobuněčný karcinom a NSCLC NOS

Z jednotek spadajících do WHO kategorie velkobuněčného karcinomu v této kapitole nebude zmiňován velkobuněčný neuroendokrinní karcinom, který je popisován v kapitole o neuroendokrinních tumorech.

#### Diagnóza z resekátu – velkobuněčný karcinom:

Problematika současného pojetí velkobuněčného karcinomu je poměrně složitá, což je dáno zejména paralelní existencí stávající WHO klasifikace z roku 2004 a nově přijaté klasifikace NSCLC v malých vzorcích z roku 2011. Stanovit diagnózu klasického velkobuněčného karcino-



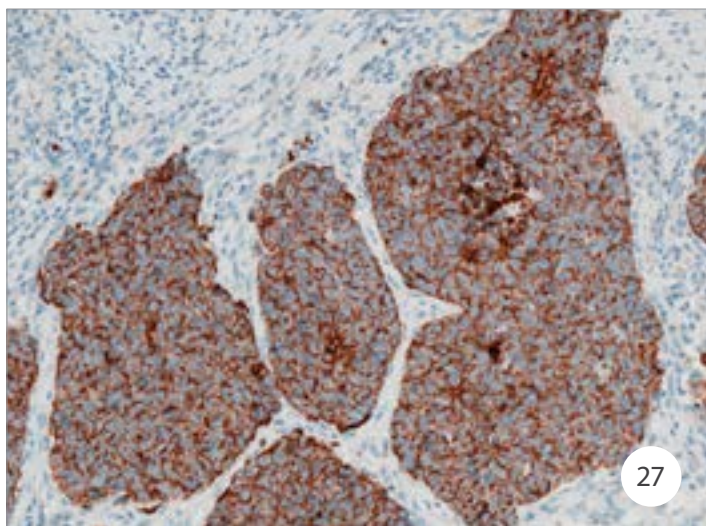
23 – Typický karcinoid tvořený převážně elongovanými či vřetenitými elementy bez výraznějších atypií, bez mitotické aktivity

24 – Typický karcinoid – difúzní membránová pozitivita v průkazu CD56 potvrzuje neuroendokrinní původ nádoru

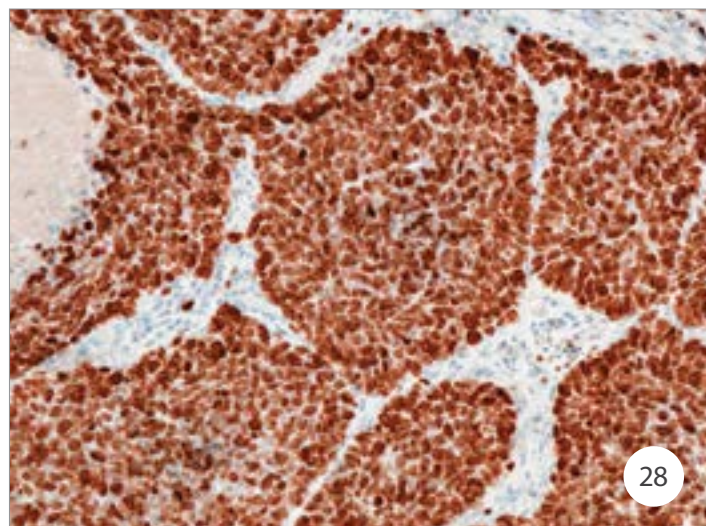
25 – Typický karcinoid – hodnocení proliferační aktivity průkazem Ki67

26 – LCNEC – výrazně atypické nádorové buňky s minimem cytoplazmy vykazující solidně-alveolární růst s přítomností centrálních nekrotéz

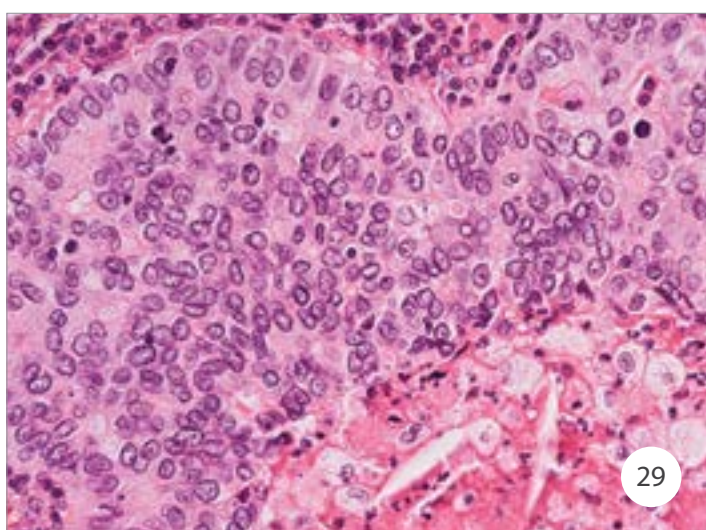




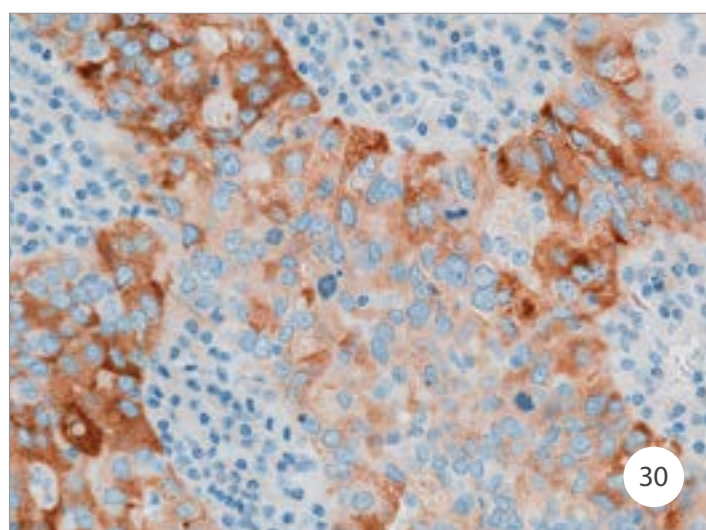
27



28

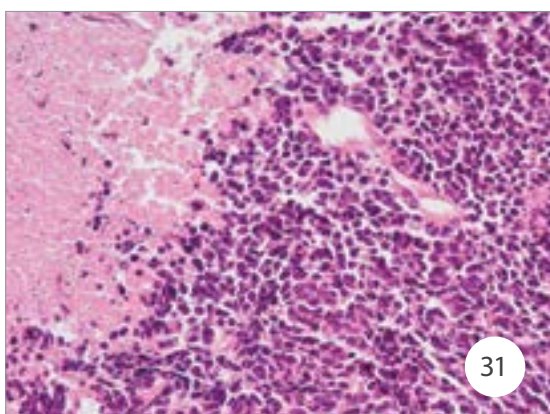


29

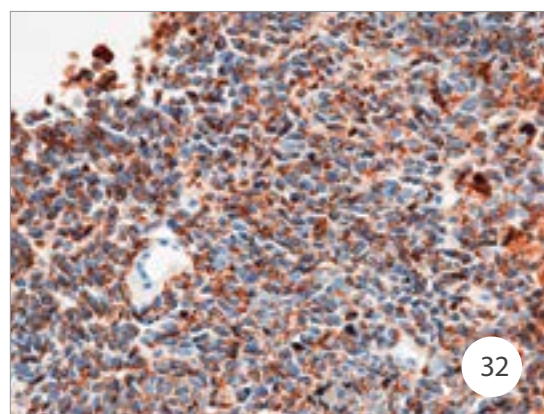


30

27 – LCNEC – imunohistochemická demonstrace synaptofyzinu je difúzně pozitivní prakticky ve všech nádorových buňkách  
28 – LCNEC – s velmi vysokou proliferační aktivitou koresponduje exprese Ki67 v téměř 100 % nádorových buněk



31



32

29 – 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

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

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

32 – Malobuněčný karcinom – difúzní cytoplazmatická exprese synaptofyzinu má vzhledem k minimálnímu množství cytoplazmy zvláštní „tečkovitý“ charakter

32 – Malobuněčný karcinom – difúzní cytoplazmatická exprese synaptofyzinu má vzhledem k minimálnímu množství cytoplazmy zvláštní „tečkovitý“ charakter





mu je možné pouze z resekátu a dle definice WHO klasifikace jde o diagnózu *per exclusionem* založenou na čistě morfolo­gickém základě (nepočítá se s použitím dalších speciálních metod). Dle údajů v odborné literatuře by použití imunohistochemie mělo šanci snížit četnost nádorů ve skupině velkobuněčného karcinomu až o 90 %. Toho času neexistuje jednoznačné oficiální doporučení stran použití imunohistochemie. Vzhledem k rozdílnosti terapeutických přístupů se však významně přikláníme k použití imunohistochemie v podobném duchu, jako je doporučováno u malých vzorků. U velkobuněčného karcinomu jsou popisovány mutace EGFR, proto by jejich vyšetření mělo být vždy provedeno.

#### 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 morfolo­gii a jsou p63 i TTF-1 negativní, jsou klasifikovány jako NSCLC NOS a je u nich indikováno vyšetření mutace EGFR.

#### Variety velkobuněčného karcinomu

Další tumory ze skupiny velkobuněčného karcinomu dle WHO klasifikace 2004 jsou vzácné a jejich diagnóza je možná také prakticky výlučně z resekátu – patří sem zejména:

**Tumory s bazaloidní diferenciací** – WHO klasifikace rozlišuje bazaloidní dlaždicobuněčný karcinom (s morfolo­gicky zřetelnou dlaždicobuněčnou diferenciací) a bazaloidní karcinom ze skupiny velkobuněčných karcinomů; dle recentních studií se prognóza obou těchto jednotek neliší a je poměrně nepříznivá. Z praktického pohledu je tedy vhodné vyšetřit expresi p63 – v případě positivity je tumor klasifikován jako bazaloidní varianta dlaždicobuněčného karcinomu (a to i v případě, že nemá zcela jednoznačnou dlaždicobuněčnou morfolo­gii, a nesplňoval by tedy striktní kritéria WHO pro dlaždicobuněčný karcinom).

**Lymphoepithelioma-like carcinoma** – jde o tumor s výraznou lymfocytární infiltrací, nádorové buňky jsou pozitivní při in situ hybridizačním průkazu EBV. Tumor má pravděpodobně blíže k dlaždicobuněčné diferenciaci, nemívá mutace EGFR.

**Velkobuněčný karcinom s rhabdoidním fenotypem** je v současné literatuře popisován spíše jako adenokarcinom, je u něho popisována přítomnost mutací EGFR.

**Světlobuněčný karcinom** je jednotka s diferenciální diagnostikou směřující zejména k metastáze světlobuněčného renálního karcinomu.

## Adenoskvamózní karcinom

#### Diagnóza z resekátu:

Adenoskvamózní karcinom má diferencovanou dlaždicobuněčnou i adenokarcinomovou komponentu. Striktně dle WHO klasifikace 2004 jde o jednotku diagnostikovatelnou pouze z resekátu a patří sem pouze tumory, u nichž jsou obě komponenty zcela zjevné morfolo­gicky, přičemž minoritní z nich musí tvořit alespoň 10 % nádoru. Četnost těchto tumorů je poměrně nízká, prognóza je horší než u čistého dlaždicobuněčného karcinomu nebo adenokarcinomu.

Hlavní jednotkou v diferenciální diagnóze je mukoepidermoidní karcinom (viz níže u tumorů z bronchiálních žlázek).

#### Diagnóza z malých vzorků – NSCLC NOS s duální diferenciací:

Diagnózu adenoskvamózního karcinomu nelze stanovit z malé biopsie. Pokud je dvojí diferenciaci zjevná již morfolo­gicky, používá se diagnóza „NSCLC, pravděpodobně adenoskvamózní karcinom“.

Pokud nále­z není zcela jednoznačný morfolo­gicky, je vhodné použití více imunohistochemických markerů – například p63 a CK5/6 pro dlaždicobuněčnou diferenciaci a TTF-1, CK7 a barvení na hlen pro žlázovou diferenciaci. Pro diagnózu „NSCLC NOS s duální diferenciací, možný adenoskvamózní karcinom“ by měly být pozitivní oba typy markerů a měla by být patrna tendence k expresi na různých buňkách.

Poznámka:

Žlázová komponenta adenoskvamózního karcinomu poměrně často není TTF-1 pozitivní.

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

Rohovějící dlaždicobuněčné struktury jsou 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 periferii nádorových čepů.

Duálně diferencované tumory mívají mutace EGFR (a je kauzisticky popsána jejich dobrá reakce na anti-EGFR terapii). Jsou popisovány i četnější přestavby ALK.

## Sarkomatoidní karcinom

#### Diagnóza z resekátu:

Sarkomatoidní karcinom představuje skupinu nízce diferencovaných nemalobuněčných karcinomů se sarkomo-





vou nebo sarkomatoidní komponentou. Definitivní diagnózu je možné stanovit jen z resektátu. Tyto tumory mají velmi agresivní chování, často je patrná angioinvasze. Jsou popsány následující varianty:

**Vřetenobuněčný karcinom (spindle cell carcinoma)** má vřetenité karcinomové elementy tvořící sítě nebo fascikly, častá je zánětlivá infiltrace stromatu, diagnosticky důležitá je konstantní exprese epiteliálních markerů.

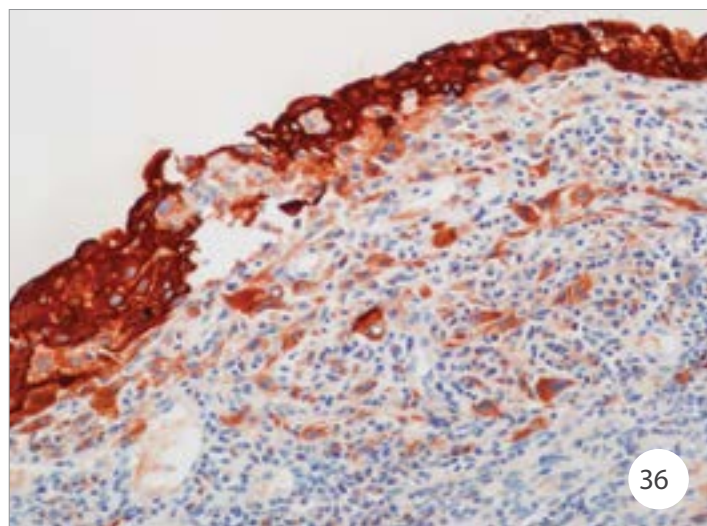
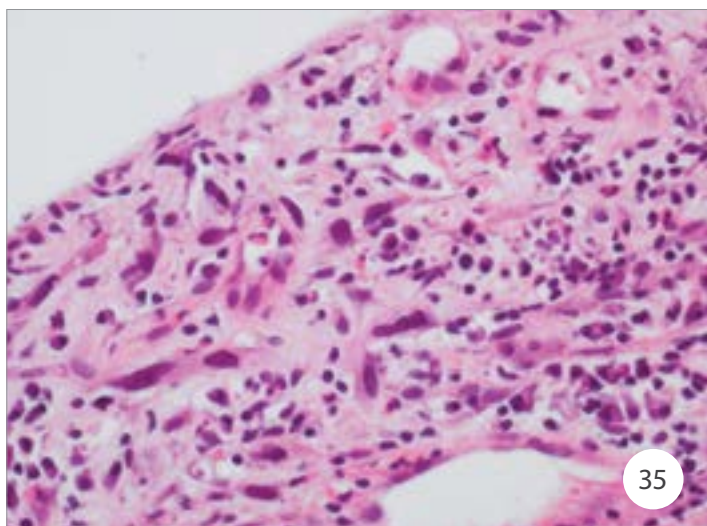
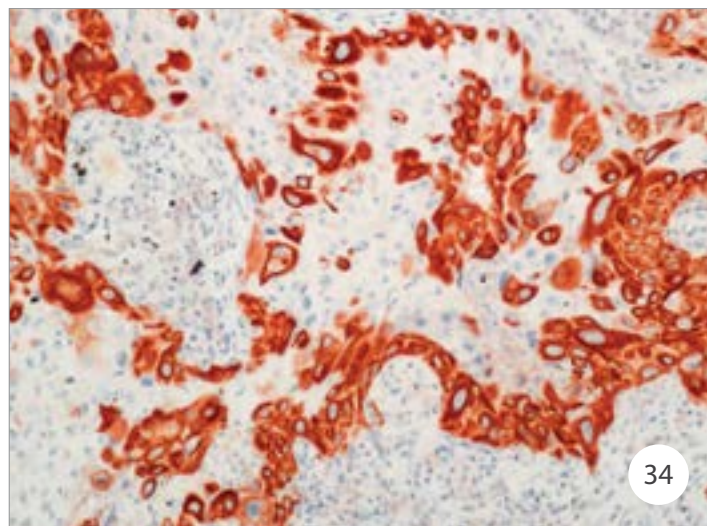
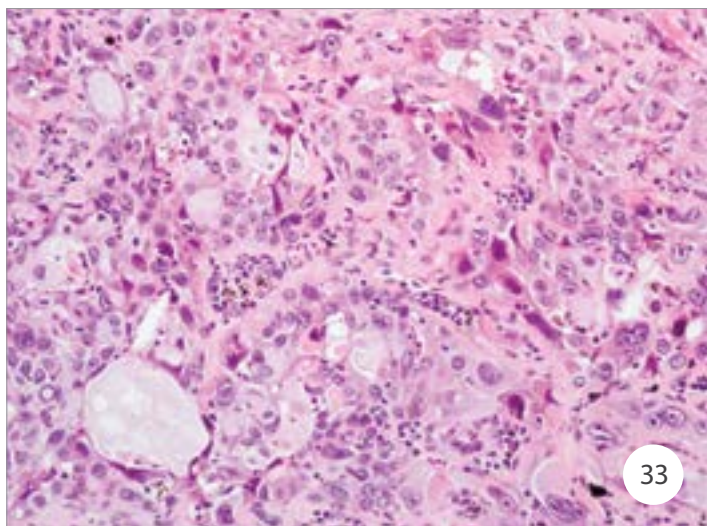
**Obrovskobuněčný karcinom (giant cell carcinoma)** tvoří nekohezivní, vysoce atypické, často mnohojaderné velké buňky, s velkým množstvím zánětlivého infiltrátu (neutrofilly, emperipoléza), vykazují také konstantní expresi epiteliálních markerů.

Oba nádory se mohou vyskytovat samostatně, 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 (spindle cell nebo giant cell).

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

**Plicní blastom (pulmonary blastoma)** je extrémně vzácný – má komponentu fetálního adenokarcinomu a primitivní stromální komponentu.



33 – Adenoskvamózní karcinom se smíšenou přítomností buněk s evidentní dlaždicobuněčnou diferenciací i elementů žlázových

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

35 – Sarkomatoidní karcinom – vysoce atypické vřetenobuněčné elementy s hyperchromními jádry jsou rozptýleny v bohaté mezibuněčné matrix

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



Poznámka:

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.

**Diferenciální diagnostika** všech těchto afekcí je i v resekátu někdy poměrně problematická – hlavní jednotky, které je třeba odlišit, jsou mezoteliom (pozitivita mezoteliálních markerů), synoviální sarkom (charakteristická genetika), inflamatorní myofibroblastický tumor, metastázy (sarkomy, maligní teratom...). Oproti čistě morfologickému přístupu WHO klasifikace 2004 je vhodné v současné době doplnit i imunohistochemické a genetické vyšetření (minimálně průkaz mutací EGFR u pleomorfního karcinomu s adenokarcinomovou komponentou).

#### **Diagnóza z malých vzorků:**

V malých vzorcích je třeba věnovat pozornost dvěma věcem – přítomnosti sarkomatoidní komponenty (výrazně zhoršuje prognózu) a přítomnosti diferenciace směrem k adenokarcinomu nebo dlaždicobuněčnému karcinomu (ovlivňuje další terapeutický postup). Tyto dvě podstatné skutečnosti 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 sarkomatoidní komponenta, nebo jde o NSCLC NOS se sarkomatoidní (vřetenobuněčnou nebo obrovskobuněčnou) diferenciací.

### **Nádory z bronchiálních žlázek**

#### *Mukoepidermoidní karcinom*

##### **Diagnóza z resekátu:**

Diagnóza mukoepidermoidního karcinomu je stanovitelná pouze z resekátu. Jde o tumor vycházející z bronchiálních žlázek, který roste nejčastěji polypoidně endobronchiálně. Diagnostika je stejná jako u tumorů slinných žláz – jsou zde tři typy buněk: dlaždicové, žlázoové a intermediární. Jde o poměrně vzácné nádory, které se však vyskytují relativně častěji u dětí. Rozlišujeme nádory nízce a vysoce maligní. Nízce maligní nádory mají v případě, že jsou resekabilní, poměrně příznivou prognózu. Nízce diferencovaný mukoepidermoidní karcinom je někdy prakticky nemožné odlišit od adenoskvamózního karcinomu, prognóza je u obou nádorů podobně nepříznivá. Diferenciálně diagnosticky je pro diagnózu mukoepidermoidního karcinomu pod-

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

#### **Diagnóza z malých vzorků:**

Tato diagnóza není jednoznačně stanovitelná z endobiopsie, proto je diagnostika v malých vzorcích v podstatě stejná, jak byla popisována 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*

Tumor stejného vzhledu jako ve slinných žlázách hlavy a krku, hlavním diagnostickým znakem je přítomnost extracelulární matrix z materiálu z bazálních membrán. Vyskytuje se hlavně v průdušnici a velkých bronších. Pokud je resekabilní, měl by se odstranit s delším úsekem makroskopicky nepostíženého bronchu, protože roste často infiltrativně podél chrupavky a perineurálně. Tumor nemívá mutace EGFR. Může metastazovat i desítky let po diagnóze, proto 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.*

### **Imunohistochemické (IHC) vyšetření u malých biopsií**

Poznámka:

TTF-1 pozitivita neznamená automaticky diagnózu plicního adenokarcinomu – asi polovina velkobuněčných neuroendokrinních karcinomů je také pozitivních. Při pochybnostech, zda jde v malém vzorku o NSCLC spíše adenokarcinom, nebo o neuroendokrinní karcinom (např. pouze jeden pozitivní neuroendokrinní marker, buňky s velkým množstvím cytoplazmy), by vždy mělo být provedeno vyšetření mutace EGFR. Pokud má tumor morfologii pro adenokarcinom, měl by se i při pozitivních neuroendokrinních markerech diagnostikovat jako adenokarcinom.

U tumorů se suspektní sarkomatoidní morfologií je třeba pokusit se klasifikovat event. diferencovanou komponentu, žlázoovou (s vhodností vyšetření EGFR a ALK) či dlaždicobuněčnou. Sarkomatoidní komponentu je nezbytné vždy zmiňovat ve výsledku (významně prognosticky nepříznivý faktor).



Morfologie	Základní IHC vyšetření*	Vhodnost dalšího IHC vyšetření	Diagnóza	Prediktivní markery**
jednoznačná pro dlaždicobuněčný karcinom	není třeba		dlaždicobuněčný karcinom	
jednoznačná pro adenokarcinom	není třeba		adenokarcinom	EGFR, ALK
jednoznačně dlaždicová i adenokarcinomová diferenciaci	není třeba		NSCLC s dlaždicobuněčnou i adenokarcinomovou diferenciací, možný adenoskvamózní karcinom	EGFR, ALK
suspektní z neuroendokrinní diferenciaci	TTF-1, CD56, synaptofyzin, chromogranin		neuroendokrinní tumor (viz text)	
nepříznačná morfologie	p63/p40 pozitivní difúzně na všech buňkách, TTF-1 negativní		NSCLC spíše dlaždicobuněčný karcinom	
nepříznačná morfologie	p63/p40 negativní, TTF-1 pozitivní difúzně na všech buňkách		NSCLC spíše adenokarcinom	EGFR, ALK
nepříznačná morfologie	p63/p40 i TTF-1 pozitivní na stejných buňkách		NSCLC spíše adenokarcinom	EGFR, ALK
nepříznačná morfologie	p63/p40 i TTF-1 negativní	vyloučit IHC metastázy a neuroendokrinní tumor	NSCLC NOS	EGFR, ALK
nepříznačná morfologie		CK7 výrazně silněji pozitivní na buňkách p63/p40 negativních nebo difúzně pozitivní a CK5/6 pozitivní striktně jen na p63/p40 pozitivních buňkách	NSCLC NOS, možný adenoskvamózní karcinom	EGFR, ALK
fokálně jednoznačná dlaždicobuněčná nebo adenokarcinomová diferenciaci, jinde nepříznačná	p63/p40 pozitivní na části buněk, TTF-1 negativní			
nepříznačná morfologie				
fokálně jednoznačná dlaždicobuněčná nebo adenokarcinomová diferenciaci, jinde nepříznačná	p63/p40 a TTF-1 pozitivní na různých buňkách		NSCLC NOS, možný adenoskvamózní karcinom	EGFR, ALK

\* Základní IHC vyšetření u non-neuroendokrinních tumorů zahrnuje marker žláznové diferenciaci (TTF-1, popř. napsin A) a dlaždicobuněčné diferenciaci (p63, popř. p40, cytokeratin 5/6).

Pro neuroendokrinní tumory jde o CD56, synaptofyzin a chromogranin.

\*\* Problematika vyšetření prediktivních markerů je podrobněji probírána výše v textu.





## Molekulární genetika plicních nádorů

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. V současné době je pro selekci vhodných pacientů pro cílenou léčbu užívána detekce dvou hlavních genetických markerů – mutace EGFR a přestavby ALK.

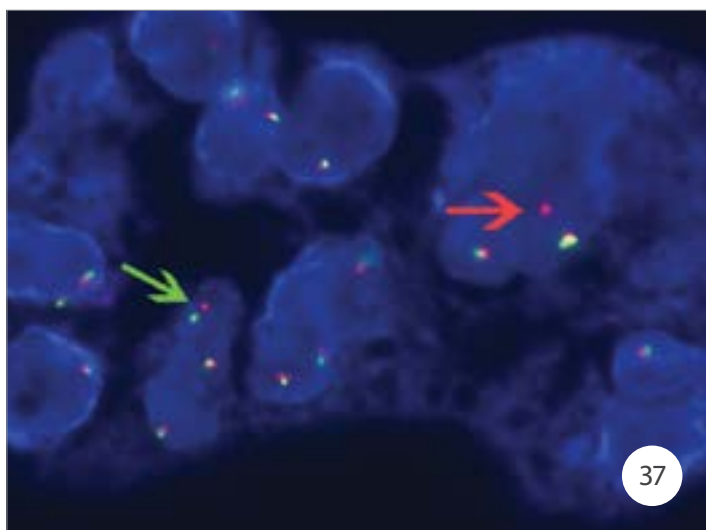
### I. Které markery testovat?

#### EGFR

Transmembránový receptor kódovaný genem na 7. chromozomu, jehož aktivace vazbou ligandu vede ke spuštění intracelulární signální kaskády. V konečném důsledku dojde k ovlivnění exprese genů vedoucích k buněčné proliferaci. Terapie inhibitory tyrozinkináz (TKI), tedy tzv. anti-EGFR terapie, je indikována k léčbě nemocných s primárním plicním adenokarcinomem s aktivujícími mutacemi EGFR; četnost je odhadována na 10–15 %.

#### ALK

Gen anaplastické lymfomové kinázy (ALK) kóduje membránový tyrozinkinázový receptor a u člověka je lokalizován na 2. chromozomu. U karcinomu plic dochází ke specifické genetické přestavbě – inverzi genu ALK a jeho fúzi s různými partnery, nejčastěji se vznikem fúzního genu EML4/ALK. Terapie cílená proti ALK je indikována k léčbě pacientů s primárním adenokarcinomem plic s pozitivitou ALK; četnost je odhadována na 2–7 %.



37 – 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)

## DALŠÍ PROGNOSTICKÉ A PREDIKTIVNÍ MARKERY HODNÉ ZŘE- TELE PRO BUDOUCNOST

První výsledky probíhajících klinických studií ukazují, že jako slibné markery pro budoucnost mohou sloužit další genetické změny, jako např. mutace ROS, RET, MET, KRAS, HER, BRAF, PI3KCA, ERBB2. V současné době však žádný z těchto markerů není používán v rámci rutinního vyšetřování.

### II. Jak testovat?



Testování molekulárně biologických prediktivních markerů lze provést pouze po potvrzení přítomnosti nádorových buněk NSCLC, ideálně po subtypizování NSCLC a potvrzení subtypu, který je indikován pro vyšetření mutací. Za výběr materiálu je vždy zodpovědný výhradně patolog, úzce spolupracující s molekulárním biologem.

#### EGFR

Molekulární analýza by měla být provedena: u všech adenokarcinomů, u NSCLC spíše adenokarcinomu, a NSCLC NOS, tedy i u nádorů smíšených, se složkou adenokarcinomu, a u velkobuněčného karcinomu. Testovány jsou aktivující mutace EGFR v exonech 18–21 (80–90 % mutací je v exonech 19 a 21).

Aktivující mutace jsou primárně testovány pomocí certifikovaných kitů různými metodami. Laboratoř provádějící testování musí být schopna test provést dvěma různými metodami:

1. Real-time PCR (amplifikace DNA v reálném čase; dnes dostupné sondy Scorpion ARMS, TaqMan PCR).
2. PNA-LNA PCR Clamp (technologie real-time PCR řízená sondami; PNA= peptidická nukleová kyselina).
3. StripAssay (reverzní hybridizace amplifikované DNA na stripu).
4. Sekvence (dle Sanger).
5. Pyrosequencing (využívá luminiscenční detekce bisfosfátu uvolněného při prodloužení replikovaného řetězce inkorporací nukleotidů polymerázou).
6. Next-generation sequencing (sekvenování nové generace).

## Senzitivita (% mutované DNA)

	25 %	10 %	1–5 %	Konkrétní mutace*
Sekvenace (dle Sanger)	+			ano
Pyrosekvenace		+		ano
Real-time PCR			+	ano/ne
PNA-LNA PCR Clamp			+	ne
StripAssay			+	ano

\* Metoda zjišťuje nejen, zda byla ve vyšetřeném úseku DNA zastižena mutace či nikoli, ale podává informaci i o tom, o kterou konkrétní mutaci jde.

Vždy je nutné při výběru metody brát v potaz citlivost metody – poměr mutantní DNA/celkové DNA v parafínových vzorcích (viz tabulku). Z tohoto důvodu je klíčová spolupráce morfologa označujícího oblast vyšetření a molekulárního patologa.

### ALK

Molekulární analýza by měla být provedena: u všech adenokarcinomů, u NSCLC spíše adenokarcinomu, a NSCLC NOS na základě vyžádání (pneumo)onkologa – imunohistochemicky (IHC) – průkazem exprese proteinu ALK – a/nebo metodou in situ hybridizace (ISH) – průkazem přestavby genu. Přestavbu genu ALK lze testovat screeningově pomocí IHC metod s použitím vhodné protilátky a pozitivní nález potvrdit pomocí certifikovaných sond metodou ISH.

### III. Jaký vzorek testovat?



Materiálem potenciálně použitelným pro molekulárně genetické vyšetření je jakýkoliv materiál vhodný pro morfologickou diagnózu. Bez stanovené morfologické diagnózy NSCLC však nelze testovat molekulárně geneticky. Cytologie je ve srovnání s biotickým vzorkem vhodnější pro molekulárně genetickou diagnostiku, a to jak z hlediska času stanovení diagnózy, tak výtěžnosti kvalitní DNA. Tento aspekt je však třeba porovnat s výrazně nižší diagnostickou výtěžností subtypizace NSCLC, která je z cytologického vyšetření jen omezená, zejména v porovnání s biotickými vzorky. Proto je optimální kombinovat diagnózu cytologickou a histomorfologickou.

### Endoskopická biopsie

Volba metody závisí na relativním zastoupení nádorových elementů ve vzorku. V případě, že podíl nádorových buněk je kolem 10 %, je nutné využít senzitivnější real-time PCR, v případě vyššího podílu (kolem 50 %) je možné použít přímé sekvenování. Krájeny jsou 5µm řezy z celého bloku. Při dostatečném zastoupení nádorových buněk krájíme dle použití izolační techniky 1–10 řezů.

Optimálním množstvím nádorových buněk je cca 500, rozmezí vhodné k testování s výtěžností zaručující správnou interpretaci je cca 200–400 nádorových buněk.

V případě, že je podíl nádorových buněk nižší než 10 %, je nutné snažit se zvýšit jejich zastoupení pomocí makro- či mikrodisekce. Není-li již nádor v parafínovém bloku zachován (dostupný) nebo v případě, že není dostatek nádorové tkáně ani pro mikrodisekci, může být k analýze využít dříve obarvený preparát po demontování v případě, že je zaručen minimální počet 1000 nádorových buněk.

### Cytologické vzorky

Je-li dostatečné zastoupení nádorových buněk, je možné použít cytologický nátěr a celý preparát seškrábnout sterilním skalpelem či žiletkou. V případě preparátu s velkou příměsí krve, deskvamovaných nenádorových epitelů a s nádorovou populací přítomnou pouze v některých oblastech preparátu je vhodné použití makrodisekce po předchozím označení nádorových buněk morfologem.

Cytogenetická analýza (ISH) z cytologických materiálů není ideální; v rámci přípravy preparátu pro vyšetření ISH často dojde ke ztrátě nádorových buněk, což výrazně limituje interpretaci výsledku, s výhodou je však možné užít cytoblok.





### Chirurgicky odebraný vzorek (resekát)

Je nutné označit oblast obsahující nejvyšší podíl nádorových buněk, aby se zabránilo zbytečné příměsi nenádorových buněk či nekrotických partií nádoru. Minimální počet buněk (velikost disekované oblasti) závisí na způsobu extrakce DNA (dle doporučení výrobce kitu) a/nebo na objemu lyzačního pufru. Pro většinu izolačních kitů je dostatečným 1–5 řezů po 10 µm.

Množství izolované DNA vstupující do PCR reakce je pro většinu metod limitováno koncentrací 1 ng/µl!

### HE preparát

Možností je také analýza pomocí PCR reakce (EGFR) např. z archivních HE preparátů. Je zde však riziko nevýtěžných výsledků z důvodu poškození jaderné DNA eozinem.

### IV. Kontrola kvality

- Vnitřní kontrola kvality jednotlivých běhů (pozitivní; negativní kontrola v rámci analýzy).
- Vnitřní kontrola v rámci laboratoře (4× za rok, nebo při validaci nového kitu).
- Externí hodnocení kvality – mezilaboratorní porovnání; účast v etablovaných národních či mezinárodních programech EHK.

### V. Skladování a archivace vzorků

Zhotovené řezy lze jak na skle, tak ve zkumavce uchovávat neomezeně dlouho.

Izolovanou nukleovou kyselinu lze skladovat neomezeně při teplotě  $-20^{\circ}\text{C}$ ; množství izolovaného materiálu je dle použité metody 50–100 µl a lze jej používat k řadě analýz. Cytogenetické preparáty lze skladovat min. 6 měsíců po odečtení pro možnost kontroly, vhodné je vedení potřebné fotodokumentace.

### Seznam referenčních laboratoří pro vyšetřování prediktivních markerů (stav k 1. 2. 2013)

- Biopstická laboratoř, Plzeň
- Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN, Hradec Králové
- Referenční laboratoř LF UP, Olomouc
- Oddělení onkologické a experimentální patologie, MOÚ, Brno
- Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol, Praha
- Ústav patologie 1. LF UK a VFN, Praha
- Oddělení patologie a molekulární medicíny, Thomayerova nemocnice, Praha
- Biolab, Praha
- Ústav patologie LF MU a FN, Brno
- Laboratoře Agel, Nový Jičín
- CGB, Ostrava

### Literatura

Corrin B, Nicholson AG. Pathology of the Lungs: Expert Consult: Online and Print. 3rd ed. Churchill Livingstone, Elsevier: London 2011.

Hirsch FR, Jänne PA, Eberhardt WE, Cappuzzo F, et al. Epidermal Growth Factor Receptor Inhibition in Lung Cancer: Status 2012. *J Thorac Oncol* 2013; 8: 373–384.

Leslie KO, Wick MR. Practical pulmonary pathology. 2nd ed. Elsevier Saunders: Philadelphia 2011.

Garrido P, de Castro J, Concha Á, Felip E, et al. Guidelines for biomarker testing in advanced non-small-cell lung cancer. A National Consensus of the Spanish Society of Medical Oncology (SEOM) and the Spanish Society of Pathology (SEAP). *Clin Transl Oncol* 2012; 14: 338–349.

Pirker R, Herth FJ, Kerr KM, Filipits M, et al.; European EGFR Workshop Group. Consensus for EGFR mutation testing in non-small cell lung cancer: results from a European workshop. *J Thorac Oncol* 2010; 5: 1706–1713.

Tomashefski JF, Cagle PT, Farver CF, Fraire AE. Dail and Hammar's Pulmonary Pathology. 3rd ed. Springer: New York 2008.

Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink HK, Harris CC. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. IARC Press: Lyon 2004.

Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson A, 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, Noguchi M, Nicholson AG, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society: International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 244–285.

Travis WD, Brambilla E, Riely GJ. New Pathologic Classification of Lung Cancer: Relevance for Clinical Practice and Clinical Trials. *J Clin Oncol* 2013; 31: 992–1001.

Travis WD; IASLC Staging Committee. Reporting lung cancer pathology specimens. Impact of the anticipated 7th Edition TNM classification based on recommendations of the IASLC Staging Committee. *Histopathology* 2009; 54: 3–11.



# Lung Cancer Histopathology Reporting Guide

International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR)



Family/Last name	<input type="text"/>	Gender	<input type="checkbox"/> Male	<input type="checkbox"/> Female
Given name(s)	<input type="text"/>		<input type="checkbox"/> Intersex/indeterminate	
		Date of birth	<input type="text" value="DD - MM - YYYY"/>	
Patient identifiers	<input type="text"/>	Date of request	<input type="text" value="DD - MM - YYYY"/>	
		Accession/Laboratory number	<input type="text"/>	

Elements in **black text** are REQUIRED. Elements in **grey text** are RECOMMENDED.

## Operative procedure

- Wedge resection  Bilobectomy   
Lobectomy  Pneumonectomy   
Other

## Specimen laterality

- Left  Right  Not provided

## Attached anatomical structures

- None submitted  Submitted

## Accompanying specimens

- None submitted  Lymph nodes  Other

## Tumour site

- Upper lobe  Middle lobe  Lower lobe

Bronchus (specify site)

## Separate tumour nodules

- Cannot be assessed  Absent

Synchronous primaries  (REQUIRED elements should be reported for *each* synchronous primary)

Present

Number of tumours

Site

- Same lobe   
Different ipsilateral lobe   
Contralateral lung

## Maximum tumour dimension

## Macroscopic appearance of pleura overlying tumour

## Atelectasis/obstructive pneumonitis

- Present  Absent  Not assessable   
Involves entire lobe  Involves entire lung

## Tumour involves main bronchus within 20 mm of carina

- Involved  Not involved  Not assessable

## Distance of tumour to closest resection margin

## Block identification key

(List overleaf or separately with an indication of the nature and origin of all tissue blocks)

## Histological tumour type

(Value list from the World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. (2004))

- Squamous cell carcinoma  Adenosquamous carcinoma   
Small cell carcinoma  Sarcomatoid carcinoma   
Adenocarcinoma  Carcinoid tumour   
Large cell carcinoma  Other

## Histological grade

- Well differentiated  Poorly differentiated   
Moderately differentiated  Undifferentiated   
Not applicable

## Response to neoadjuvant therapy

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

## Direct invasion of adjacent structures

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

## Lymphovascular invasion

- Present  Not identified  Indeterminate

## Visceral pleural invasion

- Present  Not identified  Indeterminate   
Cannot be assessed

Extent of pleural involvement

- PL1  PL2  PL3

## Perineural invasion

- Present  Not identified  Indeterminate



**Other neoplastic processes (eg tumorlets,NEH, AAH, dysplasia)**


**Non-neoplastic lung disease**


**SURGICAL MARGIN STATUS**

**Bronchial margin**

Involved by invasive carcinoma  Not involved   
 Involved by CIS only  Not applicable

**Vascular margin**

Involved  Not involved  Not applicable

**Other margin 1** eg parenchymal, chest wall

--

Involved  Not involved  Not applicable

**Other margin 2** eg parenchymal, chest wall

--

Involved  Not involved  Not applicable

**LYMPH NODES STATUS**

Station(s) examined (specify)


Involved  Not involved

Station(s) involved (specify)


**ANCILLARY STUDIES**

**Immunohistochemical markers**

Positive Abs	
Negative Abs	
Equivocal Abs	

Conclusions:


**EGFR result**

--

**Other molecular data**

Test	Result

**Pathological staging (AJCC 7th edition)##**

m - multiple primary tumours  r - recurrent  
 y - posttreatment

**Primary tumour (T)**

- TX Primary tumour cannot be assessed, or tumour proven by the presence of malignant cells in sputum or bronchial washings but not visualised by imaging or bronchoscopy.
- T0 No evidence of primary tumour
- Tis Carcinoma in situ
- T1 Tumour 3cm or less in greatest dimension, surrounded by lung or visceral pleura, without bronchoscopic evidence of invasion more proximal than the lobar bronchus (ie not in the main bronchus)\*
- T1a Tumour 2cm or less in greatest dimension
- T1b Tumour more than 2cm but 3cm or less in greatest dimension
- T2 Tumour more than 3cm but 7cm or less or tumour with any of the following features (T2 tumours with these features are classified T2a if 5cm or less); Invades main bronchus 2cm or more distal to the carina Invades visceral pleura (PL1 or PL2); Associated with atelectasis or obstructive pneumonitis that extends to the hilar region but does not involve the entire lung
- T2a Tumour more than 3 cm but 5cm or less in greatest dimension
- T2b Tumour more than 5 cm but 7cm or less in greatest dimension
- T3 Tumour more than 7cm or one that directly invades any of the following: parietal pleural (PL3) chest wall (including superior sulcus tumours), diaphragm, phrenic nerve, mediastinal pleura, parietal pericardium;or tumour in the main bronchus (less than 2cm distal to the carina\*) but without involvement of the carina; or associated atelectasis or obstructive pneumonitis of the entire lung or separate tumour nodule(s) in the same lobe
- T4 Tumour of any size that invades any of the following: mediastinum, heart, great vessels, trachea, recurrent laryngeal nerve, oesophagus, vertebral body, carina; separate tumour nodule(s) in a different ipsilateral lobe

**Regional lymph nodes (N)**

- NX Regional lymph nodes cannot be assessed
- N0 No regional 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)

**Distant metastasis (M)**

- M0 No distant metastasis
- M1 Distant metastasis
- M1a Separate tumour nodule(s) in a contralateral lobe; tumour with pleural nodules or malignant pleural (or pericardial) effusion\*\*
- M1b Distant metastasis

\* The uncommon superficial spreading tumour of any size with its invasive component limited to the bronchial wall, which may extend proximally to the main bronchus, is also classified as T1a.

\*\* Most pleural (and pericardial) effusions with lung cancer are due to tumour. In a few patients, however, multiple cytopathologic examinations of pleural (pericardial) fluid are negative for tumour, and the fluid is nonbloody and is not an exudate. Where these elements and clinical judgement dictate that the effusion is not related to the tumour, the effusion should be excluded as a staging element and the patient should be classified as M0.

## American Joint Committee on Cancer (AJCC), Chicago, Illinois. The original source for this material is the AJCC Cancer Staging Manual, Seventh Edition (2010) published by Springer Science and Business Media LLC, www.springerlink.com. Copyright permission pending.





Vydala Společnost českých patologů ČLS JEP  
©2013



**SPOLEČNOST  
ČESKÝCH PATOLOGŮ**