

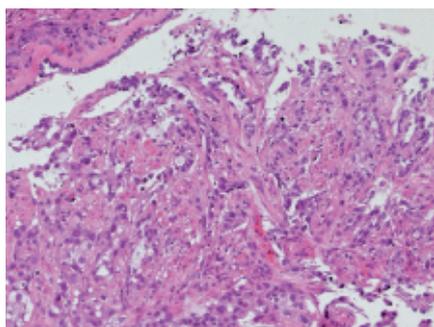
PATOLOGIA IN PILLOLE
Nr. 59

U. Perriard, A. Bordoni, M. Bongiovanni

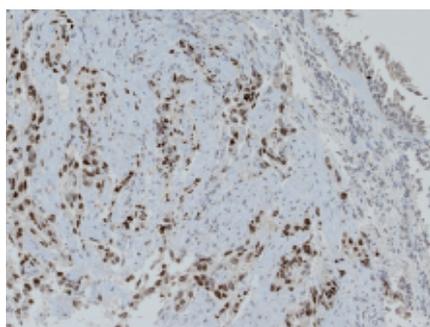
Storia clinica

Una paziente di 55 anni, forte fumatrice, si reca dal proprio medico curante per dispnea ingravescente e dolori toracici. La radiografia del torace evidenzia una grossa massa nel lobo polmonare superiore sinistro. Esami successivi rivelano inoltre lesioni epatiche sospette per secondarismi. Si decide quindi di eseguire una biopsia transbronchiale per confermare la diagnosi clinica di neoplasia polmonare.

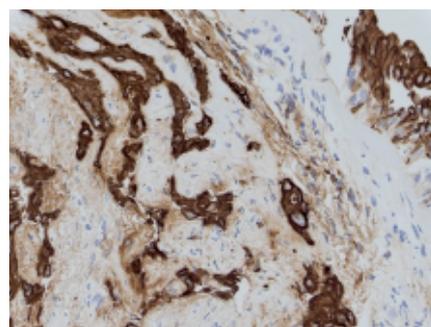
All'esame istologico si osservano degli aggregati solidi di cellule con aspetto poco differenziato e focalmente a struttura ghiandolare (**Figura 1A**). Per meglio tipizzare la lesione si decide di eseguire un'indagine immunohistochimica, che mostra intensa espressione nucleare per l'anticorpo TTF-1 (**Figura 1B**), espressione citoplasmatica per la citocheratina (CK) 7 (**Figura 1C**) e assenza di espressione per l'anticorpo p63 e CK 5/6.



1A



1B



1C

Indica la diagnosi corretta:

- a adenocarcinoma scarsamente differenziato del polmone
- b carcinoma adeno-squamoso del polmone
- c carcinoma non a piccole cellule del polmone (non small cell lung cancer/NSCLC)
- d metastasi
- e carcinoma a piccole cellule del polmone (small cell lung cancer/SCLC)

Diagnosi

Adenocarcinoma scarsamente differenziato del polmone

Commento

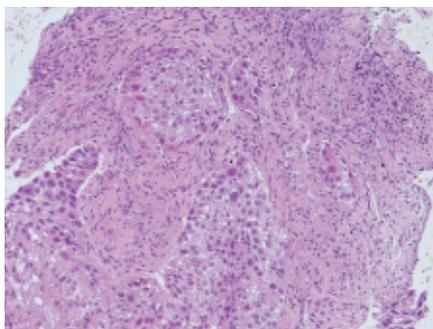
Il carcinoma polmonare è attualmente il carcinoma più frequente nel mondo e rappresenta la prima causa di morte per tumore tra gli uomini. La sua incidenza in Ticino è in aumento nella donna, soprattutto per quello che riguarda l'adenocarcinoma, ed è in diminuzione nell'uomo. Il rischio attribuibile è pari al 85% per il tabagismo, 10% per il Radon e 5% per altre cause. Nel passato, per questioni strettamente cliniche legate al tipo di trattamento, si tendeva a distinguere due tipi di carcinoma primitivo del polmone: il carcinoma a piccole cellule (small cell lung cancer/SCLC), che beneficiava di un trattamento chemioterapico e il carcinoma non a piccole cellule (non small cell lung cancer/NSCLC), che invece beneficiava di un trattamento chirurgico. La categoria dei SCLC ha la particolarità di avere una differenziazione neuroendocrina, che si evidenzia istologicamente con colorazioni immunohistochemiche appropriate, quali cromogranina, sinaptofisina e CD56. La categoria dei NSCLC include circa l'80% dei carcinomi polmonari e comprende, dal punto di vista istolo-

gico, tre istotipi: l'adenocarcinoma, il carcinoma squamo-cellulare, e il carcinoma a grandi cellule. Questi tipi si differenziano al microscopio per caratteristiche peculiari ad ognuno di essi, quali la formazione di strutture ghiandolari o la produzione di muco per l'adenocarcinoma, la produzione di cheratina e la formazione di ponti intercellulari per il carcinoma squamo-cellulare e la presenza di cellule di grande taglia con citoplasma ampio senza particolari altre differenziazioni, per il carcinoma a grandi cellule. Quest'ultimo istotipo era considerato, prima dell'utilizzo dell'immunohistochemica, come una sorta di cestino, nel quale andavano a finire tutti i carcinomi poco differenziati e non ulteriormente tipizzabili (in maggior parte si trattava di adenocarcinomi poco differenziati).

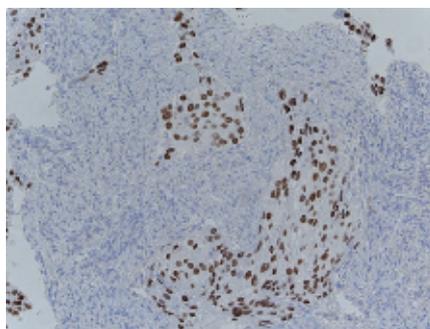
L'adenocarcinoma è l'istotipo più eterogeneo: può presentare crescita acinare, papillare, micropapillare, solida o bronchioloalveolare. Nell'80% dei casi questi differenti aspetti coesistono in varie possibili combinazioni che ne rendono la diagnosi particolarmente difficile, soprattutto nelle forme poco differenziate (come nel nostro caso).

L'impiego di nuove terapie biologicamente mirate implica la necessità di sotto-tipizzare meglio il carcinoma

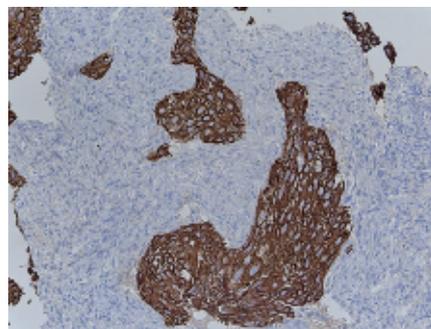
polmonare non a piccole cellule. Distinguere tra adenocarcinoma, carcinoma squamo-cellulare e carcinoma a grandi cellule è oggi importantissimo, perché le nuove molecole inibitrici delle tirosinchinasi e/o dell'epidermal growth factor receptor (EGFR) per esempio, hanno un effetto terapeutico dimostrato nell'adenocarcinoma e non negli altri tipi di carcinoma. Essendo poi la maggioranza dei pazienti con NSCLC in uno stadio avanzato della malattia, non più trattabili chirurgicamente, la scelta del giusto farmaco diventa fondamentale. In casi di malattia avanzata la citologia o il prelievo bioptico restano spesso l'unica metodica minimamente invasiva per ottenere del tessuto tumorale per stabilire la diagnosi corretta ed eseguire esami di biologia molecolare. Fortunatamente, l'esame immunohistochemico può essere di aiuto per la classificazione istologica corretta del tumore. Infatti a partire dal 2003, sempre più numerosi sono stati gli studi che hanno mostrato come alcuni antigeni sono espressi in maniera preferenziale da certi istotipi piuttosto che da altri. In particolare l'introduzione dell'anticorpo contro il fattore di trascrizione TTF-1 (preferenzialmente espresso negli adenocarcinomi, **Figura 1A e 1B**) e dell'anticorpo contro la proteina p63 (prefe-



2A: infiltrazione della mucosa bronchiale da parte di una neoplasia solida, non-cheratinizzante, con focale formazione di ponti intercellulari



2B: esame immunohistochemico con espressione nucleare di p63 nel carcinoma squamocellulare



2C: esame immunohistochemico con espressione citoplasmatica di CK5/6 nel carcinoma squamocellulare

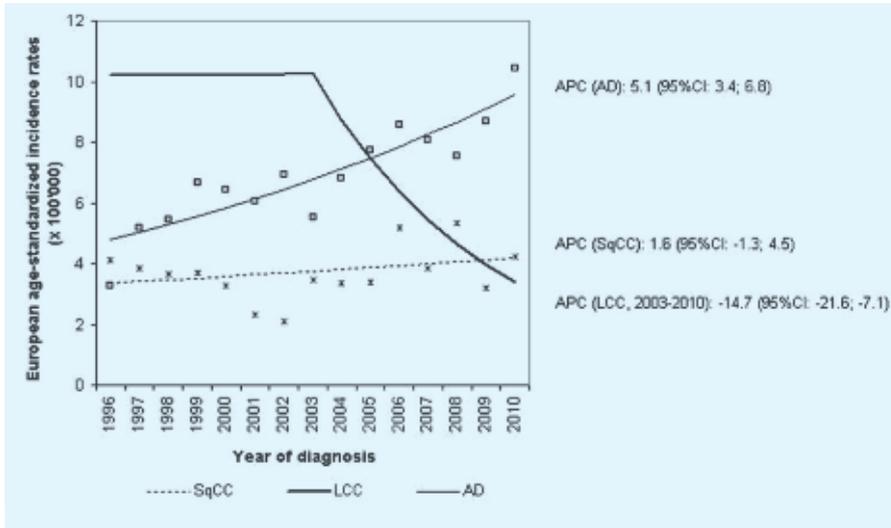


Fig. 3: tendenza dell'incidenza degli istotipi del carcinoma polmonare poco differenziato in Ticino (1996-2010), standardizzati secondo l'età. (SqCC: carcinoma squamo cellulare; LCC: carcinoma a grandi cellule; AD: adenocarcinoma)

L'introduzione di questi anticorpi nella diagnostica anatomo-patologica ha avuto un risvolto impressionante sulla diminuzione di incidenza del carcinoma a grandi cellule e sull'aumento di incidenza dell'adenocarcinoma, rilevato a livello cantonale dal Registro Tumori. Come si evince dalla **Figura 3**, a partire dal 2003 l'incidenza dell'adenocarcinoma è nettamente aumentata a discapito del carcinoma a grandi cellule. Questo fatto si spiega con la migliore tipizzazione istologica dei tumori polmonari dovuta agli ausili diagnostici dell'immunoistochimica specificati sopra. Vista l'importanza pratica, sia a livello diagnostico sia terapeutico, dell'utilizzo di questi anticorpi la Società Svizzera di Patologia ha emanato delle linee guida che consigliano l'uso di un pannello di 4 anticorpi (TTF1 e CK7 versus CK5/6 e p63) per meglio tipizzare i carcinomi del polmone (**Figura 4**). Una miglior tipizzazione istologica consente di conseguenza di effettuare delle indagini di biologia molecolare solo in certi tipi tumorali (nella fattispecie gli adenocarcinomi) piuttosto che altri (i carcinomi squamo-cellulari e a grandi cellule), che non sono mai interessati da alterazioni dell'EGFR e quindi non sono candidati a terapie mirate anti-EGFR.

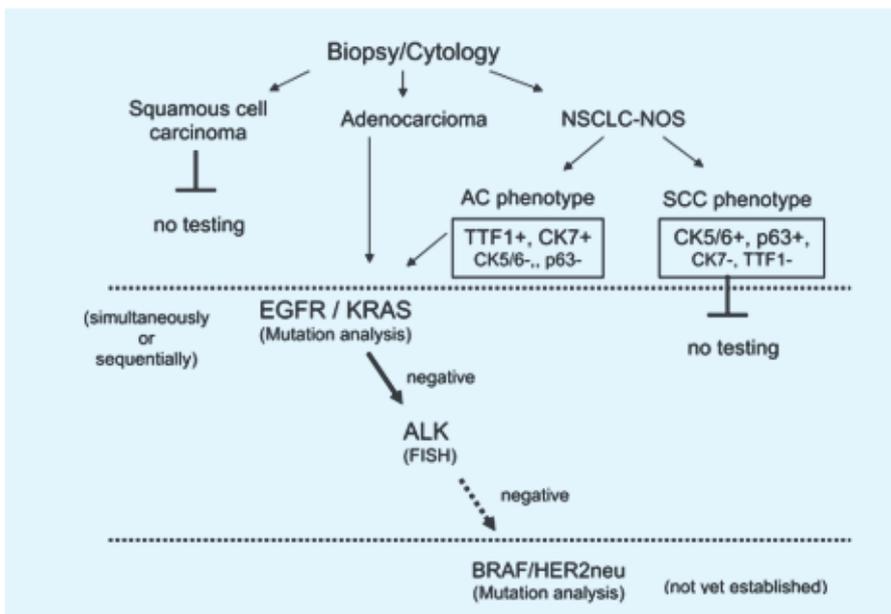


Fig. 4: algoritmo per l'applicazione di esami immunoistochimici proposto dalla Società Svizzera di Patologia

renzialmente espressa nei carcinomi squamo-cellulari, **Figura 2A e 2B**) hanno rivoluzionato il modo in cui fino ad ora si classificavano i carcinomi del polmone. Altri anticorpi rilevano la presenza di citocheratine con

diverso peso molecolare che sono espresse in maniera differente nei carcinomi polmonari, quali la CK7 negli adenocarcinomi (**Figura 1C**) e la CK 5/6 nei carcinomi squamo-cellulari (**Figura 2C**).

Ma cosa evidenziano questi anticorpi?

- Il TTF-1, (thyroid transcription factor), è un fattore di trascrizione nucleare con un ruolo importante nello sviluppo e nella fisiologia della tiroide e del polmone. Di conseguenza il TTF-1 viene espresso normalmente nelle cellule follicolari tiroidee e nei pneumociti polmonari. Numerosi studi d'immunoistochimica hanno dimostrato che anticorpi diretti contro il TTF-1 possono essere utili nella diagnostica istologica per identificare carcinomi originari da cellule follicolari tiroidee, quali il carcino-

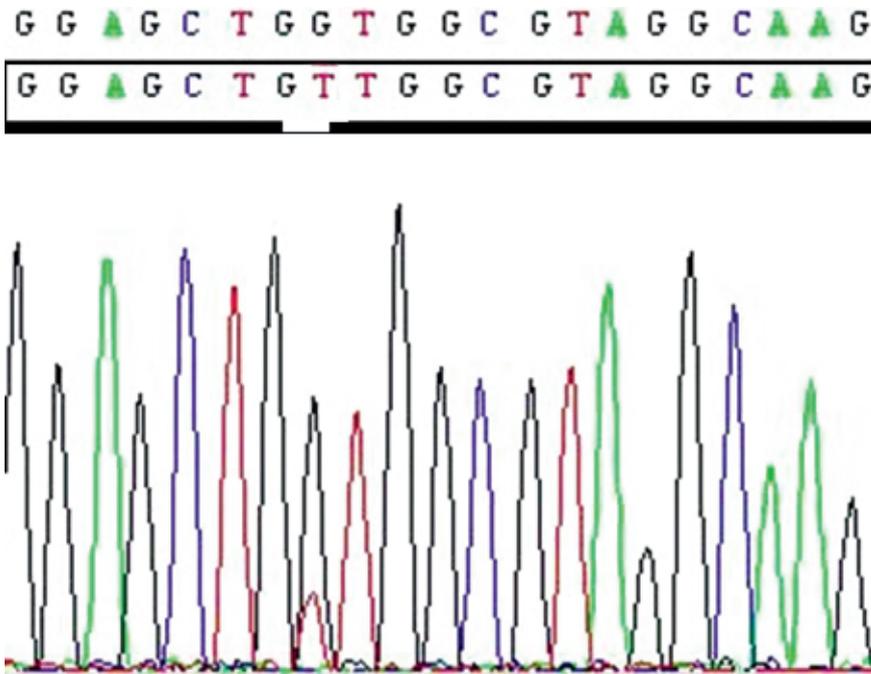


Fig. 5: Mutazione di K-ras nell'adenocarcinoma polmonare: sequenza "wild type" e sequenza "mutata" (con doppio picco rosso/nero)

ma follicolare o il carcinoma papillare, e carcinomi originari da pneumociti, quali l'adenocarcinoma (presenza di espressione in circa il 75% dei casi). Inoltre il TTF-1 è risultato anche essere espresso dai carcinomi di natura neuroendocrina.

- Le citocheratine (CK) rappresentano una famiglia di polipeptidi che si differenziano in base al peso molecolare e al punto isoelettrico (acido o basico). Ne esistono una ventina di tipi e si trovano nel citoplasma. La CK7 è espressa normalmente nell'epitelio polmonare e negli adenocarcinomi e in parte anche nei carcinomi squamo-cellulari e in qualche carcinoma a grandi cellule. Le CK 5/6 invece è espressa prevalentemente nei carcinomi squamo-cellulari.
- La p63 è una proteina che appartiene alla famiglia della p53, è importante nello sviluppo dei tessuti epiteliali ed è normalmente

espressa dalle cellule basali dell'epitelio bronchiale. Nei tumori polmonari, l'espressione, di tipo nucleare, è descritta nella maggioranza dei carcinomi squamo-cellulari (>95%) e in numerosi carcinomi neuroendocrini. Una focale e debole espressione è possibile anche in adenocarcinomi, che purtroppo non sempre esprimono TTF1. Per questo motivo, per evitare errori diagnostici, si preferisce usare non solamente un anticorpo, ma un pannello costituito dai quattro anticorpi discussi sopra.

Per ritornare alla nostra paziente, la neoplasia polmonare si presentava già in stadio avanzato con metastasi epatiche. Trattandosi di un adenocarcinoma, venne considerata una terapia mirata contro l'EGFR. L'analisi di biologia molecolare effettuata sul materiale proveniente dalla stessa biopsia, mostrò tuttavia assenza di

mutazioni negli esoni 18-21 del gene EGFR, escludendo così la paziente da questa terapia. Inoltre si identificò una mutazione nel codone 12 del gene K-Ras (**Figura 5**) che è fortemente correlata con l'anamnesi di fumatrice, prognosi severa e mancanza di risposta alla terapia anti-EGFR.

U. Perriard, A. Bordoni, M. Bongiovanni
Istituto Cantonale di Patologia e
Registro Tumori, Locarno

Bibliografia

Jefferson T et al. Optimal immunohistochemical markers for distinguishing lung adenocarcinomas from squamous cell carcinomas in small tumor samples. *Am J Surg Pathol* 2010;34:1805-1811

Mukhopadhyay S, Katzenstein AL. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation on biopsy specimens: utility of an immunohistochemical panel containing TTF1, Napsin A, p63, and CK5/6. *Am J Surg Pathol* 2011;35:15-25

Travis WD et al. WHO Classification of Tumours. Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. IARC Press 2004

Dabbs DJ. Diagnostic Immunohistochemistry. Theranostic and genomic applications. 3rd ed. Saunders Elsevier 2010.