

Diagnostyka nabłonkowych guzów nerek nie powoduje zazwyczaj większych problemów, jednak w nielicznych przypadkach, szczególnie gdy mamy do czynienia z przerzutami, mogą się pojawić trudności. Celowana diagnostyka immunohistochemiczna z wykorzystaniem panelu przeciwciał może ułatwić ustalenie prawidłowego rozpoznania. Na podstawie przedstawionych w piśmiennictwie danych dotyczących ekspresji różnych przeciwciał, można uznać, że zestaw pięciu przeciwciał: CK7, CK20, 34betaE12, CD10 i wimentyny jest w stanie skutecznie pomóc w diagnostyce różnicowej nabłonkowych guzów nerek, zarówno przy ocenie podtypu nowotworu, jak i przy różnicowaniu zmian wtórnych.

Dużo większe trudności można napotkać w trakcie rutynowej diagnostyki guzów nadnercza. Dotyczą one zarówno oceny pochodzenia guza (korowy v. rdzenny), jak i jego biologii. Analiza immunofenotypu może być pomocna w ustaleniu rozpoznania, jednak określenie złośliwości nadal opiera się na kryteriach morfologicznych, a jedyną przydatną informację niosą tu markery określające aktywność mitotyczną. Podsumowując, możemy stwierdzić, że różnicowanie guzów korowych, rdzennych i innych nowotworów nabłonkowych można dosyć skutecznie przeprowadzić używając panelu przeciwciał, do którego należą: cytokeratyny, marker D-11, kalretynina, inhibina, bcl-2 oraz synaptofizyna. Niestety, wykorzystanie barwień immunohistochemicznych, za wyjątkiem Ki-67, nie wnosi wielu istotnych informacji klinicznych, a kryteria morfologiczne nadal pozostają najważniejsze przy ocenie rokowania.

Słowa kluczowe: nerka, nadnercza, guzy nabłonkowe, barwienia immunohistochemiczne.

# Przydatność barwień immunohistochemicznych w różnicowej diagnostyce histopatologicznej nabłonkowych guzów nerek oraz rdzenia i kory nadnerczy

## *Usefulness of immunohistochemistry in differential diagnosis of epithelial renal and adrenal gland tumors*

Robert Kubiak<sup>1</sup>, Janusz Kopczyński<sup>2</sup>, Grażyna Pasz-Walczak<sup>1</sup>, Dorota Jesionek-Kupnicka<sup>1</sup>, Radziśław Kordek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Patologii Nowotworów, Katedra Onkologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

<sup>2</sup>Zakład Patologii Nowotworów, Świętokrzyskie Centrum Onkologii w Kielcach

### WSTĘP

Zazwyczaj diagnostyka nowotworów nabłonkowych nerki nie stwarza większych trudności. Dużo częściej problemy diagnostyczne wymagające dodatkowych badań immunohistochemicznych napotyka się przy różnicowaniu przerzutów raka nerki z przerzutami innych nowotworów. Nieco odmienne zadania stawia diagnostyka guzów nadnercza, gdyż kłopoty można napotykać nie tylko przy określeniu pochodzenia zmiany (kora vs rdzeń), lecz również przy ocenie złośliwości. Codzienna praktyka uczy nas, że nie ma jednego specyficznego przeciwciała, które cechowałoby się 100-proc. czułością i specyficznością i umożliwiło różnicowanie pomiędzy zbliżonymi morfologicznie guzami. Dopiero zastosowanie panelu kilku przeciwciał może ułatwić ustalenie prawidłowego rozpoznania.

### GUZY NEREK

Aktualna klasyfikacja guzów nabłonkowych nerek wg UICC/AJCC z 1997 r. [1] wymienia postać klasyczną/konwencjonalną (jasnokomórkową) raka z komórki nerkowej (*conventional [clear cell] renal cell carcinoma* CRCC), raka brodawkowatego (*papillary renal carcinoma* PC), raka chromofobowego (*chromophobe renal carcinoma* PHC), raka cewek zbiorczych (*collecting duct carcinoma* CDC), raka niesklasyfikowanego (*renal cell carcinoma, unclassified* UnC), raka urotelialnego (*urothelial carcinoma* UC) – wywodzącego się z nabłonka urotelialnego układu kielichowo-miedniczkowego oraz łagodny nowotwór nabłonkowy – *onkocytoma* (*oncocytoma* – OC).

Filogenetycznie, najczęstsza odmiana raka nerki (CRCC) wywodzi się z części proksymalnej nefronu – z komórek cewek krętych pierw-

*The diagnosis of epithelial renal tumors is usually not difficult, except for some rare cases, especially of metastatic tumors. The use of immunohistochemistry with a targeted panel of antibodies can help us to make the right diagnosis. According to recently published data, we can assent that a combination of five antibodies, CK7, CK20, 34betaE12, CD10 and Vimentin is sufficient in differential diagnosis of renal cell tumors.*

*We encounter many more diagnostic problems with the diagnosis of the adrenal gland tumors. The assessing of biologic behavior of these lesions can be also quite difficult. Although, the immunohistochemistry can distinguish the cortical tumors from the medullary ones and some other epithelial tumors, but in the prognostic field the IHC is insignificant and the diagnosis is still based on the morphological criteria. In summary, the analysis of the immunophenotype, using antibodies like Cytokeratin, D-11 renal marker, Calretinin, Inhibin, bcl-2 and Synaptophysin can be useful in differentiation between tumors: medullary, cortical and other epithelial ones. Up to now, there is no antibody, which can help us to evaluate the biological behavior of the adrenal gland tumors.*

*Key words: kidney, adrenal gland, tumors, immunohistochemistry.*

szego rzędu. Podstawowe odmiany raka nerki różnią się dosyć znacznie zarówno rokowaniem, jak również pochodzeniem i immunofenotypem. Większość raków nerki to nowotwory występujące sporadycznie, a jedynie ok. 1–5 proc. przypadków raka może stanowić odmianę dziedziczną. Obecnie znane są 3 geny, których mutacje są wykrywane w poszczególnych odmianach raka nerki. Najlepiej poznanym genem jest gen supresorowy *VHL*, odpowiedzialny za wystąpienie zespołu von Hippel-Lindau, którego mutacje stwierdza się w ok. 50 proc. przypadków sporadycznego raka jasnokomórkowego. Protoonkogen *MET* jest mutowany w ok. 15 proc. przypadków raka brodawkowego i jest odpowiedzialny za rozwój tzw. dziedzicznego brodawkowego raka nerki (HPRC). Najmniej znanym genem jest *BHD*, którego mutacja powoduje wystąpienie zespołu *Birt Hogg Dube*. Wiąże się on z współistnieniem raków chromofobnych, *onkocytoma* oraz nowotworów przydatkowych skóry twarzy i szyi [2, 3].

Historycznie, za cechę charakterystyczną dla CRCC (jasnokomórkowego raka nerki) uważano współekspresję antygenów dla wimentyny i cytokeratyn. Okazuje się, że jest to prawda jedynie w połowie, gdyż znaczna część raków jasnokomórkowych jest niemal całkowicie *niema* lub dodatnia w niewielkim odsetku dla przeciwciał przeciwko większości cytokeratyn: CK5/6 (2 proc.), CK7 (11 proc.), CK8/18 (0 proc.), CK14 (1,6 proc.), CK19 (41 proc.) i CK20 (1,4 proc.) [4–6].

Inny marker nabłonkowy, EMA jest wykrywany w większości przypadków raka chromofobnego i *onkocytoma*, jednak jego ekspresja w klasycznym raku jasnokomórkowym (CRCC) jest niska i wynosi ok. 20 proc. przypadków [12].

W odróżnieniu od cytokeratyn wimentyna jest wykrywana w większości przypadków CRCC (88 proc.) [7].

Od kilku lat za charakterystyczne dla raka jasnokomórkowego, jak również raka brodawkowego uznane zostały przeciwciała RCC marker (*Renal Cell Carcinoma Marker*) oraz CD10. Avery i wsp., badając zróżnicowaną morfologicznie grupę raków nerki, stwierdzili ekspresję obu przeciwciał odpowiednio w 85 proc. i 94 proc. przypadków [8]. Jednakże w ostatnio opublikowanej pracy Gokden i wsp. ocenili poziom czułości RCC marker na 33 proc., co ich zdaniem wynikało głównie z powodu ogniskowej ekspresji. W ich przekonaniu ogranicza to przydatność tego markera w diagnostyce rutynowej, szczególnie gdy dysponuje się ograniczoną ilością materiału [9].

Przeciwciała CD10 nadal jest uznawane jako przydatne w diagnostyce CRCC, lecz jego ekspresję można również stwierdzić w większości raków brodawkowych (PC) [5]. Jednakże w pozostałych odmianach raków z komórki nerkowej (raków chromofobnych i z cewek zbiorczych) nie stwierdzono ekspresji CD10.

Inne, ostatnio wyprodukowane przeciwciała przeciwko białku jądrowemu homologicznemu do p53 – anty-p63 jest uznawane za skuteczne w rozgraniczeniu nisko zróżnicowanych postaci CRCC i UC. Ekspresję p63 stwierdza się w niemal wszystkich rakach urotelialnych (96 proc.) w odróżnieniu od raków jasnokomórkowych (0 proc.) [10]. Jednakże, wykonanie barwień przeciwko cytokeratynom CK7 i CK20, jak również cytokeratynom o wysokim ciężarze cząsteczkowym (34betaE12) jest w stanie skutecznie odróżnić obie postaci raka, gdzie profil CK7+/CK20+, 34betaE12+ jest uznany za charakterystyczny dla raków urotelialnych [11].

Rak brodawkowy (PC) mimo podobieństw do CRCC w pochodzeniu (wywodzi się z dalszej części cewki krętej pierwszego rzędu) i zbliżonego profilu immu-

nohistochemicznego (CD10 +, Vim +, RCC marker +) różni się ekspresją CK7, występującą niemal we wszystkich przypadkach [4]. Podobną błonową ekspresję CK7 stwierdza się również w rakach chromofobowych (CPC), jednakże pozbawione są one ekspresji CD10, wimentyny i RCC marker [12].

Złe rokujące raki cewek zbiorczych (CDC) są najczęściej wimentynonegatywne, z niewielkim odsetkiem wykazującym ekspresję CK7 (ok. 20 proc.). Dodatkowo charakteryzują się dodatnim barwieniem przeciwko ciężkim cytokeratynom (34betaE12) oraz CK 8/18 i CK 19 [4].

Jedynie nieliczne przypadki *onkocytoma* wykazywały słabe, ogniskowe, ziarniste podbarwienie cytoplazmy przy barwieniu przeciwko CK7, jednak pozbawione ono było typowego błonowego charakteru [13]. Barwienie przeciwko CK 8/18 cechowało się charakterystycznym punktowym, okołojądrowym odczynem typu *dot-like* [6]. Co ciekawe, niemal wszystkie przypadki *onkocytoma* charakteryzują się ekspresją C-Kit (CD117), podobnie jak tkanki nie zmienione nowotworowo [14]. Raki jasnokomórkowe i brodawkowate wykazywały w 15 proc. i 28 proc. przypadków ekspresję C-KIT, natomiast raki chromofobowe charakteryzo-

wały się niemal 60-proc. odsetkiem dodatnich guzów.

Analizując przedstawione w powyższym materiale dane, dotyczące ekspresji różnych przeciwciał, można uznać, że kombinacja ekspresji 5 przeciwciał: CK7, CK20, 34betaE12, CD10 i wimentyny jest w stanie skutecznie pomóc w diagnostyce różnicowej nabłonkowych guzów nerek (tab. 1.).

## GUZY NADNERCZY

Rutynowa diagnostyka guzów nadnerczy może nastęrczać dużo więcej trudności niż ma to miejsce w przypadku guzów nerek. Nierzadko odróżnienie guzów kory i rdzenia może powodować kłopoty [15, 16].

Dodatkowy problem i wyzwanie (mimo licznych istniejących morfologicznych kryteriów diagnostycznych) stanowi odróżnienie guzów o charakterze łagodnym od ich złośliwych odpowiedników, zarówno w przypadku guzów korowych, jak i rdzennych [17–20]. Do chwili obecnej poszukiwane są markery immunohistochemiczne, które mogłyby stanowić uzupełnienie kryteriów morfologicznych [21–23].

Komórki gruczołu nadnerczowego wywodzą się z mezodermy i w związku z tym nie wykazują ekspresji cytokeratyn lub też eks-

presja ta jest ogniskowa, ograniczona do pojedynczych przypadków [24, 25]. Fakt ten może stanowić ułatwienie przy różnicowaniu ich z innymi guzami pochodzenia nabłonkowego. Wyjątek stanowią guzy wykazujące cechy onkocytarne, które mogą przejawiać ekspresję pancytokeratyn (CAM 5.2 i AE1/AE3) [26].

Guz chromofobny – *pheochromocytoma*, wywodzący się z rdzenia nadnerczy, może wg niektórych autorów w ok. 28 proc. przypadków wykazywać ekspresję pancytokeratyn [27].

Wprowadzenie w latach 90. XX w. na rynek nowego przeciwciała – D11, specyficznego dla komórek kory nadnerczy otworzyło nadzieję na uzyskanie szybkiego testu diagnostycznego [25, 28]. W późniejszych pracach, analizując grupę raków korowych, ekspresję tego antygenu wykazano jedynie w około połowie przypadków, głównie wyżej zróżnicowanych [29]. Jednak, mimo różnych wyników, D11 może stanowić ważne uzupełnienie panelu diagnostycznego guzów pochodzenia korowego.

Również w celach diagnostycznych do różnicowania guzów korowych i rdzennych są ostatnio wykorzystywane kalretynina, inhibina i melan A, których ekspresja w guzach kory wynosi od 90 do 96 proc. Natomiast ekspresja

**Tab. 1. Ekspresja wybranych przeciwciał w poszczególnych podtypach guzów nerek (wymienione liczby odpowiadają odsetkowi guzów wykazujących ekspresję danego przeciwciała)**

**Table 1. The expression of some antibodies in different types of renal tumors (figures correspond to a proportion of positive tumors)**

	CK7	CK8/18	CK14	CK19	CK20	34betaE12	VIM	CD10	P63	C KIT
CRCC	11		1.5	41	1.5	–	88	+	-	15
PC	95	–	30		–	–	+	+		28
CPC	70–100		30		–	–	–	–		57
CDC	20	+		+	–	+	–	–		
UC	100	+		+	+	+	–	–	96	
OC	–	100 dot like	100		–		25	–		100

Legenda: CRCC – konwencjonalny (jasnokomórkowy) rak z komórki nerkowej, PC – rak brodawkowaty, CPC – rak chromofobowy, CDC – rak cewek zbiorczych, UC – rak urotelialny, OC – onkocytoma.

Legend: classical (clear cell) renal cell carcinoma, PC – papillary carcinoma, CPC – chromophobe carcinoma, CDC – collecting duct carcinoma, UC – urothelial carcinoma, OC – oncocytoma.

Bcl-2 w guzach kory wynosi jedynie ok. 20 proc. (*pheochromocytoma* dodatnia jest w 86 proc.) [15, 16].

Klasyczne markery różnicowania neuroendokrynnego, takie jak chromogranina-A, synaptofizyna czy NFP, w przeciwieństwie do guzów rdzenia nadnercza, są wykrywane jedynie w niewielkim odsetku przypadków zmian korowych [17, 19, 23, 25].

Odrębnym problemem jest wykorzystanie diagnostyki immunohistochemicznej w celach prognostycznych. Pośród najczęściej wymienianych przeciwciał, mających zwiększyć skuteczność morfologicznych kryteriów rokowniczych wymieniany jest Ki-67, mający zastosowanie w diagnostyce, zarówno guzów kory, jak i rdzenia [18, 21, 22, 24]. Indeks mitotyczny wraz z kryteriami histopatologicznymi stanowią najsilniejsze czynniki różnicujące guzy o łagodnym charakterze od złośliwych.

Wimentyna, obok Ki-67, zdaniem niektórych autorów, miała być pomocna w różnicowaniu raków korowych od gruczolaków [30]. Jej silna ekspresja w komórkach guza wg Cote i wsp. występowała we wszystkich przypadkach raków korowych, spełniających morfologiczne kryteria złośliwości wg Weissa, bądź też w przypadkach o potwierdzonym złym klinicznym przebiegu. W odróżnieniu, gruczolaki charakteryzowały się odczynem heterogennym, ograniczonym głównie do elementów podścieliskowych. Jednak kolejne prace nie potwierdziły tych rewelacyjnych wyników [24, 25].

W podsumowaniu można stwierdzić, że różnicowanie guzów korowych, rdzennych i innych nowotworów nabłonkowych można dosyć skutecznie przeprowadzić, używając panelu przeciwciał, do którego należą: cytokeratyny, marker D11, kalretynina, inhibina, Bcl-2 oraz synaptofizyna (tab. 2.). Niestety, użycie barwień immunohistochemicznych, za wyjątkiem Ki-67, nie wnosi wielu istotnych informacji klinicznych, a kryteria morfologiczne nadal pozostają najważniejsze przy ocenie rokowania.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Störkel S, Eble JN, Adlakha K, et al. *Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1 Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC)*. Cancer 1997; 80: 987-9.
2. Zabar B, Lerman M. *Inherited carcinomas of the kidney*. Adv Cancer Res 1998; 75: 164-201.
3. Lubensky IA, Schmidt L, Zhuang Z, et al. *Hereditary and sporadic papillary renal carcinomas with c-met mutations share a distinct morphological phenotype*. Am J Pathol 1999; 155: 516-7.
4. Chu PG, Weis LM. *Keratin expression in human tissues and neoplasms*. Histopathology 2002; 40: 403-39.
5. Kim MK, Kim S. *Immunohistochemical profile of common epithelial neoplasms arising in the kidney*. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2002; 10: 332-8.
6. Langner C, Wegscheider BJ, Ratschek M, et al. *Keratin immunohistochemistry in renal cell carcinoma subtypes and renal oncocytomas: a systematic analysis of 233 tumors*. Virchows Arch 2004; 444: 127-34.
7. Dai L, Lu XH, Li ZH, et al. *Value of special stains and immunohistochemistry in the diagnosis of renal epithelial neoplasms*. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi 2004; 33: 140-2.
8. Avery AK, Beckstead J, Renshaw AA, Corless CL. *Use of antibody to RCC and CD10 in the differential diagnosis of renal neoplasms*. Am J Surg Pathol 2000; 24: 203-10.
9. Gokden N, Mukunadzi P, James JD, Gokden M. *Diagnostic utility of renal cell carcinoma marker in cytopathology*. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2003; 11: 116-9.
10. Langner C, Ratschek M, Tsybrovskyy O, et al. *P63 immunoreactivity distinguishes upper urinary tract transitional-cell carcinoma and renal-cell carcinoma even in poorly differentiated tumors*. J Histochem Cytochem 2003; 51: 1097-99.
11. Han AC, Duszak R Jr. *Coexpression of cytokeratins 7 and 20 confirms urothelial carcinoma presenting as an intrarenal tumor*. Cancer 1999; 86: 2327-30.
12. Khoury JD, Abrahams NA, Levine HS, MacLennan GT. *The utility of epithelial membrane antigen and vimentin in the diagnosis of chromophobe renal cell carcinoma*. Ann Diag Pathol 2002; 6: 154-8.
13. Mathers ME, Pollock AM, Marsh C, O'Donnell M. *Cytokeratin 7: a useful adjunct in the diagnosis of chromophobe renal cell carcinoma*. Histopathology 2002; 40: 563-7.
14. Miliaras D, Karasavvidou F, Papanikolaou A, Sioutopoulou D. *KIT expression in fetal, normal adult and neoplastic renal tissues*. J Clin Pathol 2004; 57: 463-6.
15. Zhang PJ, Genega EM, Tomaszewski JE, et al. *The role of calretinin, inhibin, melan-A, bcl-2, and C-kit in differentiating adrenal cortical and medullary tumors: an immunohistochemical study*. Mod Pathol 2003; 16: 591-7.
16. Jorda M, De MB, Nadjji M. *Calretinin and inhibin are useful in separating adrenocortical neoplasms from pheochromocytomas*. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2002; 10: 67-70.
17. Tatic S, Havelka M, Paunovic I, et al. *Pheochromocytoma—pathohistologic and*

**Tab. 2. Ekspresja wybranych antygenów w guzach rdzenia nadnerczy**  
**Table 2. The expression of some antigens in adrenal gland tumors**

	PanCK	D 11	Kalretyn	Inhibin	Bcl-2	Chgrg	Syn	NFP
<i>Cortical carcinoma</i>	-/+	50–90	98	90	20	–	–	–
<i>Pheochromocytoma</i>	-/+	–	–	–	86	+	+	+

Legenda: PanCK – pancytokeratyna, Kalretyn – kalretynina, Chgrg – chromogranina, Syn – synaptofizyna.  
Legend: PanCK – pancytokeratin, Kalretyn – calretinin, Chgrg – chromogranin, Syn – synaptophysin.

- immunohistochemical aspects.* Srp Arh Celok Lek 2002; 130 Suppl 2: 7-13.
18. Aubert S, Wacrenier A, Leroy X, et al. *Weiss system revisited: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 49 adrenocortical tumors.* Am J Surg Pathol 2002; 26: 1612-9.
19. Pace V, Perentes E, Germann PG. *Pheochromocytomas and paragangliomas in the aging rats: morphological and immunohistochemical characterization.* Toxicol Pathol 2002; 30: 492-500.
20. Thompson LD. *Pheochromocytoma of the Adrenal gland Scaled Score (PASS) to separate benign from malignant neoplasms: a clinicopathologic and immunophenotypic study of 100 cases.* Am J Surg Pathol 2002; 26: 551-66.
21. Stojadinovic A, Brennan MF, Hoos A, et al. *Adrenocortical adenoma and carcinoma: histopathological and molecular comparative analysis.* Mod Pathol 2003; 16: 742-51.
22. Elder EE, Xu D, Hoog A, et al. *KI-67 AND hTERT expression can aid in the distinction between malignant and benign pheochromocytoma and paraganglioma.* Mod Pathol 2003; 16: 246-55.
23. Kumaki N, Kajiwara H, Kameyama K, et al. *Prediction of malignant behavior of pheochromocytomas and paragangliomas using immunohistochemical techniques.* Endocr Pathol 2002; 13: 149-56.
24. Wieneke JA, Thompson LD, Heffess CS. *Adrenal cortical neoplasms in the pediatric population: a clinicopathologic and immunophenotypic analysis of 83 patients.* Am J Surg Pathol 2003; 27: 867-81.
25. Schroder S, Padberg BC, Achilles E, et al. *Immunocytochemistry in adrenocortical tumours: a clinicomorphological study of 72 neoplasms.* Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol 1992; 420: 65-70.
26. Hoang MP, Ayala AG, Albores-Saavedra J. *Oncocytic adrenocortical carcinoma: a morphologic, immunohistochemical and ultrastructural study of four cases.* Mod Pathol 2002; 15: 973-8.
27. Kimura N, Nakazato Y, Nagura H, Sasano N. *Expression of intermediate filaments in neuroendocrine tumors.* Arch Pathol Lab 1990; 114: 506-10.
28. Schroder S, Niendorf A, Achilles E, et al. *Immunocytochemical differential diagnosis of adrenocortical neoplasms using the monoclonal antibody D11.* Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol 1990; 417: 89-96.
29. Tartour E, Caillou B, Tenenbaum F, et al. *Immunohistochemical study of adrenocortical carcinoma. Predictive value of the D11 monoclonal antibody.* Cancer 1993; 72: 3296-303.
30. Cote RJ, Cordon-Cardo C, Reuter VE, Rosen PP. *Immunopathology of adrenal and renal cortical tumors. Coordinated change in antigen expression is associated with neoplastic conversion in the adrenal cortex.* Am J Pathol 1990; 136: 1077-84.

#### ADRES DO KORESPONDENCJI

dr n. med. **Robert P. Kubiak**  
Zakład Patologii Nowotworów  
Katedra Onkologii  
Uniwersytet Medyczny  
ul. Paderewskiego 4  
94-123 Łódź  
tel. +48 42 689 57 81  
e-mail: rpkubiak@interia.pl