

Margareta Strojjan Fležar¹

Rak dojke: značilnosti, ki jih lahko opredelimo iz vzorca aspiracijske biopsije s tanko iglo

Breast Cancer: Characteristics Which Can be Evaluated on Fine Needle Aspiration Samples

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: dojka novotvorbe – patologija, biopsija aspiracijska, imunohistokemija

Rak dojke je pereč zdravstveni problem, saj je v Sloveniji najpogostejša vrsta raka pri ženskah in tudi najpogostejši vzrok smrti zaradi raka. V diagnostiki raka dojke se je v številnih ustanovah v svetu in tudi pri nas uveljavil t. i. trojni pristop, ki vključuje klinični pregled, rentgensko slikanje dojk (mamografijo) in aspiracijsko biopsijo s tanko iglo (ABTI), pri kateri s pomočjo tanke igle posesamo celice iz tumorja. S svetlobnomikroskopsko preiskavo ustrezno obdelanega vzorca ocenimo, ali gre za malignen ali benignen tumor. Z dodatnim znanjem in izkušnjami pri določenih rakih opredelimo histološki tip, ki ima v kombinaciji z velikostjo in gradusom tumorja ter stadijem bolezni napovedni pomen za potek bolezni. Z ABTI področnih bezgavk ali s slikovno vodeno ABTI sprememb v parenhimskih organih pa pripomoremo k opredelitvi stadija bolezni. Z dodatnimi metodami, predvsem imunocitokemičnimi, lahko na vzorcih ABTI določimo nove napovedne dejavnike poteka bolezni in odziva na zdravljenje, npr. hormonske receptorje, Ki-67, Her-2 in druge.

ABSTRACT

KEY WORDS: breast neoplasms – pathology, biopsy needle, immunohistochemistry

Breast cancer is a serious health care problem, since it is the most common type of cancer in women and a leading cause of death from cancer. A diagnostic approach using triple assessment of breast cancer has been introduced in many institutions worldwide, including Slovenia. It encompasses clinical examination, mammography and fine needle aspiration biopsy (FNAB), which allows the aspiration of cells from the tumor. Malignancy is assessed by light microscopic evaluation of FNAB samples. Additional knowledge and experience enable one to further type the tumor, which in combination with its size, grade and stage helps prognosticate the disease. The FNAB of regional lymph nodes or imaging guided FNAB of parenchymal lesions help define the stage of the disease. Using ancillary methods, above all immunocytochemistry, new prognostic and predictive factors can be assessed, for example hormone receptors, Ki-67, Her-2 and others.

¹ Doc. dr. Margareta Strojjan Fležar, dr. med., specialistka patologije – citopatologije, Oddelek za citopatologijo, Onkološki inštitut, Zaloška 2, 1000 Ljubljana.

UVOD

Za rakom dojke zbolijo iz leta v leto več žensk ne le v svetu, ampak tudi v Sloveniji. Posledice, ki jih prinaša diagnoza rak dojke, so psihične in fizične in so huda obremenitev za bolnico, njeno družino in družbeno okolje.

Rak dojke je najpogostejša vrsta raka pri ženskah v Sloveniji in tudi najpogostejši vzrok smrti zaradi raka (1). V letu 2001 so v Registru raka za Slovenijo zabeležili 964 novih primerov raka dojke (pogostnost: 94,7/100.000) in 8526 žensk, ki so se zdravile ali se še zdravijo zaradi raka dojke; v tem letu je bilo vseh živih bolnikov z rakom 51271. V l. 2001 je 380 bolnic umrlo zaradi posledic bolezni.

Pri rednem samopregledovanju dojk ali pa po naključju si ženske zatipajo neenakomerno zgradbo tkiva, ki pritegne njihovo pozornost in zaradi katere poiščejo zdravniško pomoč. Osnovno vprašanje, s katerim se sooči zdravnik, je, ali je spremembo v strukturi tkiva povzročil benignen ali malignen proces. Izkušnje so pokazale, da je samo 10 % sprememb, ki jih ženske same zatipajo v dojkah, malignih. Za izboljšanje preživetja bolnic za rakom dojke je nujno, da zdravnik med množico tistih z benignimi spremembami odkrije 10 % žensk, ki imajo rak dojke, saj potrebujejo takojšnje zdravljenje. Predvsem pa je pomembno, da bolezen odkrijemo v zgodnji obliki, ko je še potencialno ozdravljiva. Zadnji podatki Registra raka za Slovenijo odkrivajo, da je imelo v l. 2001 le 48 % bolnic z rakom dojke omejeno bolezen, ostale pa so imele področno razširjeno bolezen (41 %) ali pa celo oddaljeno razširitev (10 %) (1).

V diagnostiki tipljivih tumorjev dojke se je v številnih ustanovah v svetu in tudi pri nas uveljavil t.i. trojni pristop, ki vključuje klinični pregled, rentgensko slikanje dojk (mamografijo) in aspiracijsko biopsijo s tanko iglo (ABTI) (2). Na ta način hitro razrešimo osnovno vprašanje, ali je tumor malignen ali benignen, saj je to ključnega pomena za izbiro zdravljenja.

KAJ JE ASPIRACIJSKA BIOPSIJA S TANKO IGLO (ABTI)?

ABTI je poseg, pri katerem s pomočjo tanke igle posesamo celice iz tumorja za svetlobno-mikroskopsko preiskavo (3). Poseg je enostaven,

hiter, neinvaziven, skoraj neboleč, učinkovit in poceni.

Vzorec ABTI lahko takoj ob bolnici pobavimo in pregledamo pod svetlobnim mikroskopom, da ocenimo, ali smo dobili dovolj ustreznega materiala za diagnozo in po potrebi ABTI ponovimo. Če je vzorec ustrezen, lahko že takoj postavimo diagnozo, tako bolnici ni treba v negotovosti čakati na izvide, zdravljenje pa se lahko začne.

Zapleti so izjemno redki in vključujejo predvsem sinkopo in lokalni hematom. V literaturi navajajo anekdotične primere pnevmotoraksa, ki smo ga v naši več kot 40-letni praksi zabeležili le trikrat, vendar ne pri ABTI dojke, pač pa pri ABTI tumorjev ali bezgavk v nadključnični kotanji.

POSTOPEK PRI ODVZEMU VZORCA Z ABTI

Uvod v klinični pregled je kratka anamneza, usmerjena na težave, povezane z dojko, zabeležimo pa tudi osnovne podatke o menstrualnem ciklusu. Glede na napotne podatke včasih anamnezo dopolnimo z vprašanji



Slika 1. Oprema za aspiracijsko biopsijo s tanko iglo: držalo za brizga, 10 ml brizga, igla premera 0,7 mm in dolžine 30 mm.

o prejšnjih boleznih, predvsem malignih, o prejšnjih zdravljenjih ter zdravilih, ki jih bolnica jemlje. Zelo je pomemben podatek o morebitnem raku dojke pri sorodnicah, predvsem bližnjih.

Potem dojke pregledamo. Bolnici pojasnimo poseg, tumor otipamo in izvedemo ABTI. Za ABTI potrebujemo držalo za brizgo, 10 ml brizgo in iglo premera 0,7 mm, dolžine 30 mm (slika 1). Za globoko ležeče tumorje lahko uporabimo tudi daljše igle, dolge 40 ali 50 mm, premera 0,8 mm. Tumor držimo med dvema prstoma, kožo rahlo nategnemo, nato jo očistimo z razkužilom. Bolnico opozorimo, prebodemo kožo in uvedemo iglo v tumor. Ko smo v tumorju, naredimo podtlak tako, da s pomočjo držala potegnemo bat v brizgalki navzgor. Podtlak obdržimo in postrgamo tkivo v več smereh. Ko se prikaže kaplja na bazi igle, popustimo podtlak in iglo izvlečemo.

KAKO OBDELAMO VZORCE ABTI?

Vsebinsko igle izbrizgamo na objektno stekelce in z drugim objektnim stekelcem napravimo tanek in enakomeren razmaz. Običajno pripravimo dva razmaza, enega fiksiramo s sušenjem na zraku in ga kasneje pobarvamo po Giemsi, drugega pa »moko« fiksiramo v Delauneyjevem fiksativu in barvamo po Papanicolaou. Del celičnega vzorca, ki ostane v igli in brizgi, nato speremo v celičnem mediju in ga lahko uporabimo za dodatne preiskave (pretočno citometrične meritve DNA, imunocitokemična barvanja za opredeljevanje antigenih značilnosti tumorja, vključno z oceno hormonskega statusa tumorja, nove molekularno-genetske preiskave).

ALI JE METODA DIAGNOSTIČNO ZANESLJIVA?

Osnovni pogoji za zanesljivo diagnozo so zadosten in reprezentativen vzorec, ustreznost obdelava vzorca in barvanje, predvsem pa pravilna ocena in jasen izvid.

Na Onkološkem inštitutu (OI) v Ljubljani je ABTI uveljavljen predoperacijski diagnostični postopek; tako smo v letu 2001 pregledali 4330 citoloških vzorcev tumorjev dojke pri 3318 ženskah, od tega je imelo 3144 žensk

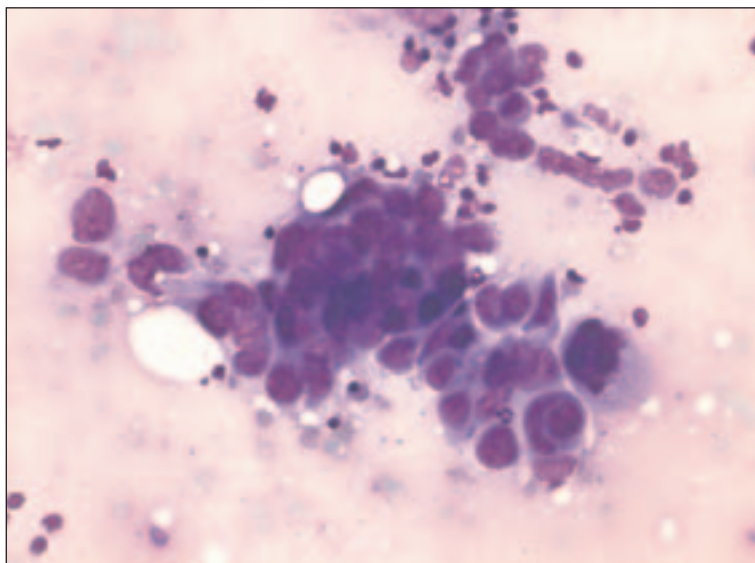
napravljeno ABTI tumorja, pri 174 ženskah pa je bil na voljo za citološki pregled le izcedek iz bradavice. Diagnozo karcinom smo postavili pri 552 (17,55 %) ženskah, sumljivo za karcinom pri 159 (5,05 %), negativno oz. benigni proces pri 1518 (42,28 %), pri 915 (29,1 %) pa nismo dobili dovolj ustreznega materiala za diagnozo oziroma material ni bil uporaben (nekroza, maščobno tkivo, drugo).

Histološko so postavili diagnozo karcinoma na OI pri 443 bolnicah, pri katerih smo napravili ABTI pred operacijo. Kakšne so bile diagnoze iz vzorcev ABTI pri bolnicah s histološko potrjenim karcinomom? Karcinom dojke smo pravilno diagnosticirali pri 338 ženskah, izvid je bil sumljiv za karcinom pri 57, izvid je bil negativen pri 23, pri 25 bolnicah pa iz karcinoma z ABTI nismo dobili dovolj ustreznega celičnega vzorca za diagnozo. Noben izvid ni bil napačno ocenjen kot karcinom. V istem letu smo iz vzorcev ABTI diagnosticirali še 214 karcinomov dojke, pri katerih nimamo histološke diagnoze karcinoma dojke. Domnevamo, da te bolnice niso bile operirane na OI ali pa so bile zdravljene s konzervativnim zdravljenjem (hormonsko zdravljenje, kemoterapija, obsevanje).

OSNOVNA OPREDELITEV TUMORJA V DOJKI IZ VZORCA ABTI – MALIGNO ALI BENIGNO?

Zgoraj navedeni podatki nas prepričajo, da iz vzorca ABTI večinoma lahko razrešimo osnovno vprašanje, ali je tumor benigni ali maligni, in tako pripomoremo k odločitvi o nujnosti zdravljenja.

Pri kliničnem pregledu otipamo različno velike tumorje, ki so večinoma čvrsti, nekateri tumorji pa so mehkejši na otip (npr. mucinozni ali papilarni karcinom). Večinoma so premakljivi, lahko pa so zraščeni s kožo, mišico. Koža je včasih spremenjena, npr. uvlečena, pomarančastega videza, celo razuljesena, podobno je lahko spremenjena tudi bradavica. Karcinomi dojke niso vedno tipljivi tumorji. Takrat jih najdemo s slikovnimi preiskavami. V teh primerih napravimo ABTI pod rentgenskim ali ultrazvočnim nadzorom. Ko izvajamo ABTI karcinoma, imamo pogosto značilen občutek, da strgamo po čvrsti snovi. Bolnice redko



Slika 2. Invazivni duktalni karcinom, brez drugih oznak, v vzorcu aspiracijske biopsije s tanko iglo. Giemsa, $\times 400$.

navajajo neprijetne občutke ali celo bolečino, ko z iglo vbedemo v karcinom.

Vzorci ABTI iz invazivnega karcinoma dojke imajo zelo različno morfološko sliko, kar ustreza različnim histološkim tipom in različni diferenciaciji karcinoma (4, 5). Običajno so vzorci gostocelularni, celice se urejajo v tridimenzionalne skupine, manjše skupke, redko v enoslojne krpe, lahko ležijo posamično. V vzorcu ABTI ne vidimo arhitekturnih znakov malignosti, tj. vdora malignih celic v stromo, žile ali živce. Zato je pomembna ocena znakov malignosti na celicah in jedrih. Znaki malignosti, kot so povečano razmerje med jedrom in citoplazmo v korist jedra, pleomorfizem (različna velikost in oblika jeder), hiperkromazija, jedrca, mitoze (tudi patološke), tumorske večjedrne velikanke, kanibalizem rakavih celic, razpad, so večinoma povezani z diferenciacijo karcinoma in so bolj izraženi pri slabše diferenciranih karcinomih. Če so znaki malignosti na celicah in jedrih jasno izraženi, je tudi citopatološka diagnoza karcinoma nedvoumna (slika 2).

Po drugi strani pa citopatološka diagnoza raka pri neinvazivnem karcinomu iz ABTI ni vedno dokončna. Približno 5 % tipljivih tumorjev dojke je neinvazivnih, *in situ* karcinomov (ISK). Z uvajanjem mamografije se je delež ISK povečal na 15 % vseh karcino-

mov. V literaturi pa navajajo, da je delež ISK v populacijah, kjer izvajajo mamografsko presejevanje, že 30 %. Histološka značilnost ISK je, da maligne celice rastejo znotraj bazalne membrane, ne vraščajo v okolico in ne zasevajo. Histološki podtipi ISK so številni, opredeljeni so z arhitekturnimi značilnostmi in stopnjo jedrne malignosti (4). Čeprav v literaturi navajajo 'značilne' citopatološke morfološke značilnosti različnih podtipov ISK, pa po naših izkušnjah zanesljiva diagnoza neinvazivnega karcinoma pogosto ni mogoča (6, 7). Če imajo celice v vzorcu ABTI jasno izražene znake malignosti, ga opredelimo kot karcinom, če pa ti znaki niso jasno izraženi, pa pogosto ostanemo pri diagnozi 'sumljivo za karcinom', nakar je potrebna histološka opredelitev procesa.

KLASIČNI NAPOVEDNI DEJAVNIKI POTEKA BOLEZNI IN ODZIVA NA ZDRAVLJENJE PRI RAKU DOJKE – KAJ LAHKO O NJIH POVEMO IZ ABTI?

V sodobnem času opredelitev tumorja kot malignega ne zadošča za celostno načrtovanje zdravljenja za posamezno bolnico. Napovedni dejavniki poteka bolezni nam pomagajo osvetliti različne klinične probleme (8). Poma-

gajo npr. prepoznati bolnice, ki imajo dobro napoved in ne potrebujejo dodatnega – adjuvantnega zdravljenja po lokalni odstranitvi tumorja. Po drugi strani omogočajo prepoznati bolnice, ki imajo slabo napoved in potrebujejo dodatno agresivno zdravljenje. Prav tako je treba izločiti bolnice, ki bodo verjetno odgovorile na določeno vrsto zdravljenja oziroma jim takšno zdravljenje ne bo koristilo.

Klasični napovedni dejavniki so velikost tumorja, stopnja diferenciacije (histološki tip in gradus) ter TNM-stadij bolezni (T (angl. *tumor*): velikost tumorja, N (angl. *node*): prizadetost regionalnih bezgavk, M (angl. *metastasis*): prisotnost ali odsotnost oddaljenih metastaz (9).

Velikost tumorja

Velikost tumorja lahko natančno izmerimo le pri makroskopskem pregledu operacijsko odstranjenega tumorja (10). V grobem velja, da imajo bolnice s tumorji, ki so manjši od 2 cm, brez zasevkov v bezgavkah, ugodnejši potek bolezni, ki se odraža v 96 % 5-letnem preživetju.

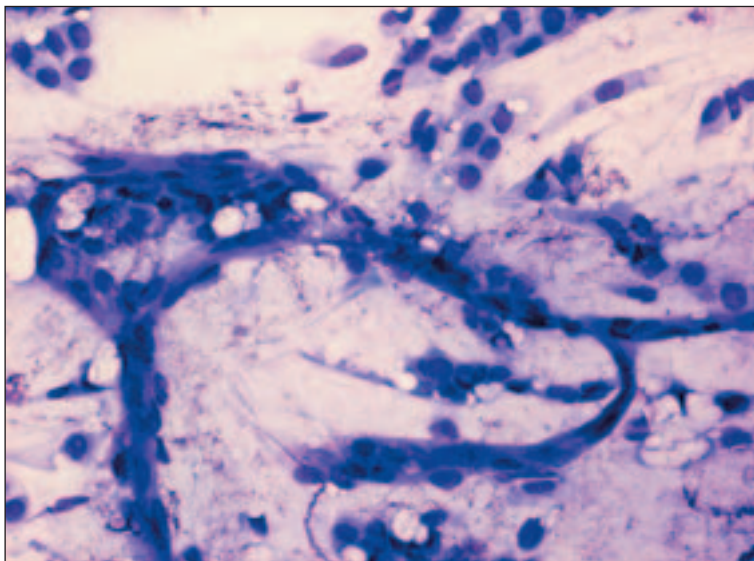
Diferenciacija

Pri svetlobnomikroskopskem pregledu odstranjenega tumorja ocenijo patologi diferenciacijo, ki je opredeljena s histološkim tipom in gradusom tumorja (10).

Najpogostejši **histološki tip** raka dojke je invazivni duktalni karcinom (IDK) (brez drugih oznak, BDO). Histološko podamo to diagnozo, ko pri danem malignomu izločimo vse posebne histološke tipe karcinoma. Po navedbah v literaturi predstavlja IDK 41–75 % vseh karcinomov v dojki, na Oddelku za patologijo OI pa 70 %.

Nekateri histološki tipi imajo odlično napoved, kar pomeni, da več kot 80 % bolnic preživi 10 let po diagnozi. Tak histološki tip je čisti mucinozni karcinom, katerega delež je 2 % med vsemi raki dojke. Najdemo ga pri starejših ženskah, običajno raste počasi. Klinično otipamo mehak in premakljiv tumor. Če dobimo v vzorcu ABTI značilne sestavine, kot so: gostocelularen vzorec, mucin v ozadju, vezni skupki nevpadljivih epitelijskih celic, jedra s pravilno jedrno membrano in drobno zrnatim kromatinom ter nežne žile, ki prepredajo mucinske otočke, je opredelitev histološkega tipa zanesljiva (slika 3) (5).

Odlično napoved ima tudi tubularni karcinom, ki je med tipljivimi raki dojke zelo redek (2 %), med mamografsko odkritimi pa je njegov delež precej višji (do 20 %). Najpogosteje so ženske s tem histološkim tipom raka v poznih 40-ih letih. Iz vzorca ABTI tubularni karcinom težko prepoznamo, ker nima izrazitih celičnih in jedrnih znakov malignosti.



Slika 3. Invazivni duktalni karcinom, tipa mucinozni karcinom, v vzorcu aspiracijske biopsije s tanko iglo. Giemsa, $\times 400$.

Večinoma vzorce sestavljajo celice ene oblike s pravilnim kromatinskim vzorcem; velikost jeder se lahko blago razlikuje, lahko so hiperkromna in vsebujejo jedrca. Na malignen proces pomislimo bolj zaradi načina organizacije celičnih skupin, prevladujejo zbiti skupki celic enega tipa, večslojne skupine in tubuli (5).

Histološki tip raka dojke z dobro napovedjo, kar pomeni, da 60–80 % bolnic preživi 10 let po diagnozi, je tudi medularni karcinom (– atipični), ki ga je med vsemi raki dojke približno 1 do 7 %. Zbolevalo ženske, ki so mlajše od povprečja, značilnega za rak dojke. Klinično otipamo mehak in premakljiv tumor. V vzorcu ABTI najdemo značilno gostocelično ozadje iz mešanice limfocitov in plazmatk, poligonarne maligne celice v velikih krpah, jedra so pleomorfna in mehurčasta, imajo velika jedrca, acinarnih struktur ni, v ozadju so še številna gola maligna jedra (5).

Naslednja skupina histoloških tipov ima zmerno dobro napoved, kar pomeni, da 50–60 % bolnic preživi 10 let po diagnozi. V tej skupini je invazivni lobularni karcinom (– klasični), ki zavzema 5–15 % vseh rakov dojke. 20 % bolnic ima ILK v obeh dojkah, pogosto so večcentrični, rastejo razpršeno, klinično jih težko prepoznamo, težko jih opredelimo tudi na podlagi rentgenske (mamografske) slike in iz vzorca ABTI. Tudi poti zasevanja so neobičajne, saj najdemo zasevke na seroznih površinah, v likvorju, na jajčnikih, v maternici, kostnem mozgu idr. V vzorcu ABTI jih prepoznamo le v približno polovici primerov. Običajno so vzorci zmerno celični ali pičli, vsebujejo večji delež posamičnih celic, ki kažejo minimalno stopnjo atipije in pleomorfizma. Jedra so ekscentrično položena, lahko najdemo tudi celice z intracitoplazemskimi svetlinami (vakuolami) (5).

V to napovedno skupino sodi tudi invazivni papilarni karcinom, ki vključuje manj kot 2 % vseh rakov dojke, pogostejši je pri starejših ženskah. Kadar so v vzorcu ABTI maligne celice, ki tvorijo papilarne ali mikropapilarne skupine, v ozadju pa so penasti makrofagi in/ali siderofagi, ga lahko citološko opredelimo. Upoštevati pa moramo, da ima podobno morfološko sliko lahko tudi intracistični papilarni karcinom ali nekatere oblike ISK (5).

Histološki tipi s slabo napovedjo, tj. manj kot 50 % 10-letnim preživetjem, so invazivni duktalni karcinom (BDO), mešani lobularni karcinom, solidni lobularni karcinom, mešani duktalni/lobularni karcinom. Iz vzorca ABTI jih prepoznamo le kot karcinome, ki jih natančneje morfološko ne opredelimo.

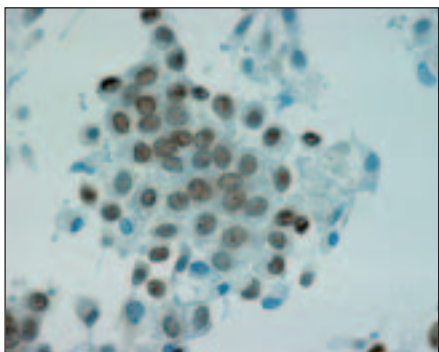
Nekateri izjemno redki primarni karcinomi dojke, kot so npr. sekretorni, nevroendokrini, metaplastični, adenoidnocistični karcinom, imajo v vzorcu ABTI lahko tipično morfološko sliko in jim lahko opredelimo histološki tip. Ker pa so ti karcinomi izjemno redki, njihov napovedni pomen ni dokončno opredeljen.

Natančneje je diferenciacija karcinoma dojke opredeljena s histološkim **gradusom**, ki je obvezen element histološkega izvida po svetlobnomikroskopskem pregledu kirurško odstranjenega raka dojke. Ocenjujemo ga po Nottinghamski modifikaciji Scarff Bloom Richardsonove metode (11). Skupno oceno gradusa prinese delež tubularnih struktur, stopnja jedrnega pleomorfizma in število mitoz. Iz ABTI ocenjujemo citološki gradus le glede na stopnjo pleomorfizma jeder (velikost jedra, jedrca in razpad celic) (12). Citološki gradus je uporaben za oceno stopnje malignosti pred zdravljenjem.

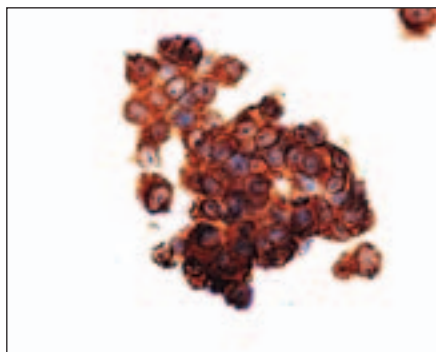
STADIJ

Pomemben napovedni dejavnik je stadij, ki ga ocenjujemo po TNM-razvrstitvi (13). T opredeljuje velikost tumorja (T0: netipljiv, T1: 0–2 cm, T2: 2–5 cm, T3: > 5 cm; T4: katerakoli velikost z vrašcanjem raka v prsni koš ali/in kožo). N so zasevki v bezgavkah (N0: ni zasevkov, N1: zasevki v regionalnih bezgavkah, N2, 3: zasevki v bolj oddaljenih bezgavkah). M so oddaljeni zasevki (metastaze), npr. v parenhimskih organih, kosteh, idr. (M0: ni zasevkov, M1: zasevki – navedejo se mesta zasevkov). Razlike v preživetju bolnic s stadijem I, ki je opredeljen kot T1N0M0, in bolnic s stadijem IV (TXNXM1) so bistvene, saj imajo prve 87 % 5-letno preživetje, druge pa 13 % 5-letno preživetje.

Z ABTI tipljivih bezgavk lahko diagnostično morebitne zasevke in bistveno pripomočemo k opredelitvi stadija bolezni, ki narekuje vrsto zdravljenja.



Slika 4. Pozitivni estrogenski receptorji pri karcinomu dojke, določeni imunocitokemično na vzorcu aspiracijske biopsije s tanko iglo.



Slika 5. Pozitivno barvanje na HER-2 pri karcinomu dojke, določeno imunocitokemično na vzorcu aspiracijske biopsije s tanko iglo.

KAJ LAHKO IZ ABTI POVEMO O NOVIH NAPOVEDNIH DEJAVNIKIH POTEKA BOLEZNI IN ODZIVA NA ZDRAVLJENJE PRI RAKU DOJKE?

Z dodatnim metodami obdelave vzorcev, predvsem pa z znanjem in izkušnjami, lahko iz vzorca ABTI pridobimo poglobljene informacije o raku dojke, nekatere lahko uporabimo kot napovedne dejavnike (14).

Estrogenski in progesteronski receptorji so pomemben napovedni dejavnik za oceno odziva na hormonsko zdravljenje in trajanja obdobja brez bolezni pri bolnicah z rakom dojke. Običajno se določajo imunohistokemično na tkivnih rezinah operacijsko odstranjenih tumorjev. Predoperacijsko določanje hormonskih receptorjev na vzorcih ABTI z imunocitokemičnimi barvanji je pomembno v primeru, da bolnica ni sposobna za operacijo, ali pa potrebujemo oceno hormonskih receptorjev pred operacijo za načrtovanje zdravljenja (slika 4) (15, 16).

Na vzorcih ABTI lahko opredelimo tudi morebitne nove napovedne dejavnike. Količina DNA v tumorju, ki jo izmerimo s pretočnim ali slikovnim citometrom, t. i. **DNA-ploidija**, odraža celotno genetsko vsebino tumorja (17). Normalna somatska celica je evploidna (diploidna), kar ustreza 23 parom kromosomov. Večje ali manjše vrednosti imenujemo anevploidne. Iz frekvenčnega histograma, ki prikaže porazdelitev količine DNA v izmerjeni tumorski populaciji, odčitamo deleže celic v posameznih fazah celičnega ciklusa; delež celic v fazi

S odraža proliferacijsko aktivnost tumorja. V raziskavah, ki so potekale na Onkološkem inštitutu vse od l. 1989, so ugotovili, da je DNA-ploidija neodvisen napovedni dejavnik poteka bolezni pri določenih skupinah bolnic z rakom dojke; več bolnic z diploidnimi tumorji je preživel 10 let po diagnozi. DNA-ploidija je bila tudi napovedni dejavnik prvega razsoja bolezni in odgovora na hormonsko zdravljenje (18).

Proliferacijsko aktivnost tumorja lahko natančneje kot z določanjem faze S iz DNA-histograma opredelimo z imunocitokemičnim barvanjem s protitelesi (npr. z MIB-1) proti jedrnemu antigenu proteinu **Ki-67**. Ta je prisoten v vseh aktivnih fazah celičnega ciklusa (fazi G1, S, G2 in mitoz), zato je odličen označevalec za določanje ravnega deleža v izbrani celični populaciji. Delež pozitivnih celic Ki-67 je povezan s kliničnim potekom bolezni. Pri raku dojke je neodvisni dejavnik za napoved preživetja bolnic in ponovitve bolezni, nekatere študije poročajo, da napoveduje tudi odgovor na zdravljenje. Morda bo določanje izraženosti Ki-67 pred zdravljenjem v prihodnosti postalo pomembno za oceno agresivnosti tumorja in za izbor primernega zdravljenja (19). Na našem oddelku smo našli odlično soodvisnost v deležu MIB-1-pozitivnih celic med histološkimi in citološkimi vzorci karcinoma dojke, kar pomeni, da to metodo lahko zanesljivo uporabimo pri vsakdanjem delu (20).

Imunocitokemično lahko iz vzorcev ABTI določamo tudi **Her-2 (c-erb-B2) onkoprotein** (p185), ki je pomemben ne le za napovedo-

vanje poteka bolezni, ampak predvsem odgovora na imunsko zdravljenje s trastuzumabom (Herceptinom®), tj. protitelesom proti Her-2 proteinu pri bolnicah z metastatskim rakom dojke (slika 5). Natančneje kot z imunocitokemičnimi barvanji bi lahko status Her-2 določili z metodo fluorescentne *in situ* hibridizacije (FISH), kjer analiziramo število kopij gena Her-2 (21). V vzorcih ABTI imamo za analizo cele ohranjene celice oz. jedra, kar je prav gotovo prednost pri štetju signalov pri tej metodi v primerjavi s štetjem na tkivnih rezinah, ki jih sestavlja veliko število prekritih in/ali prerezanih celic oz. jeder (22).

Vzorci ABTI so torej uporabni tudi za številne molekularno-biološke metode, ki pa se večinoma uporabljajo še za raziskovalne namene (npr. določanje p53-onkoproteina, vrednotenje apoptoze idr.) (23).

IN KAJ ŠE LAHKO OPREDELIMO IZ ABTI TUMORJEV DOJKE?

Ko govorimo o raku dojke, imamo večinoma v mislih žlezni rak – adenokarcinom. Ne

smemo pa pozabiti, da v dojki lahko vzniknejo tudi druge vrste raka, ki niso žleznega izvora, npr. limfom, sarkom. V vzorcih ABTI jih lahko morfološko prepoznamo, natančneje pa jih lahko opredelimo z dodatnimi imunocitokemičnimi barvanji.

Tumor v dojki pa je lahko tudi zasevek druge maligne neoplazme, npr. malignega melanoma, ki je morfološko prepoznaven, dodatno pa ga potrdimo z imunocitokemičnimi barvanji.

ZAKLJUČEK

ABTI ima pomembno vlogo v osnovni diagnostiki sprememb v dojki, ker omogoča hitro in zanesljivo morfološko opredelitev bolezenskega procesa. Posebej pomembno je, da med številnimi benignimi spremembami z ABTI pravilno opredelimo rak dojke in tudi njegovo razširjenost, saj bolnica potrebuje čimprejšnje zdravljenje. Pri ABTI dobimo dovolj celičnega materiala tudi za dodatne preiskave, npr. imunocitokemične, molekularno-genetske s katerimi dobimo dodatne informacije o raku in tudi o napovednih dejavnikih poteka bolezni in odgovora na zdravljenje.

LITERATURA

1. Incidenca raka v Sloveniji 2001. *Register raka za Slovenijo*. Poročilo RR št. 43. Ljubljana: Onkološki inštitut; 2004.
2. Žganjar J. Smernice zdravljenja raka dojke Onkološkega inštituta Ljubljana. In: Bešič N. et al. eds. *Novosti v onkologiji in smernice za obravnavo bolnic z rakom dojke in bolnikov z malignim melanomom: zbornik*. 17. onkološki vikend, Laško, 4–5 junij 2004. Ljubljana: Kancerološko združenje Slovenskega zdravniškega društva, Onkološki inštitut Ljubljana, Zveza slovenskih društev za boj proti raku; 2004. p. 91–3.
3. Us-Krašovec M. Aspiracijska biopsija v onkologiji. *Onkologija* 1998; 2: 9–10.
4. Ellis IO, Schnitt SJ, Sastre-Garau SJ, Bussolati G, Tavassoli FA, Eusebi V et al. Tumors of the breast. In: Tavassoli FA, Devilee P, editors. *WHO Classification of Tumours. Pathology & Genetics. Tumors of the Breast and Female Genital Organs*. Lyon: IARC Press; 2003. p. 9–112.
5. Zakhour H, Wells C. Invasive carcinoma. In: Zakhour H, Wells C, editors. *Diagnostic cytopathology of the breast*. 1st ed. London, Edinburgh, New York, Philadelphia, St. Louis, Sidney, Toronto: Churchill Livingstone; 1999. p. 173–8.
6. Zakhour H, Wells C. Carcinoma in situ. In: Zakhour H, Wells C, editors. *Diagnostic cytopathology of the breast*. 1st ed. London, Edinburgh, New York, Philadelphia, St. Louis, Sidney, Toronto: Churchill Livingstone; 1999. p. 157–68.
7. Fležar M, Lamovec J, Us Krašovec M. Cytomorphological characteristics of ductal breast carcinoma in situ. *Adriatic Society of Pathology. 8th international meeting, Ascoli Piceno 1993. Friuli Medico* 1993; 48 (3–4): 1.
8. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, Ruby SG, O'Malley F, Simpson JF, Connolly JL, Hayes DF, Edge SB, Lichter A, Schnitt SJ. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists consensus statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 966–78.
9. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989; 63: 181–7.
10. Elston CW, Ellis IO, Goulding h, Pinder SE. Role of pathology in the prognosis and management of breast cancer. In: Elston CW, Ellis IO (Eds) *The Breast, Systemic Pathology*. Volume 13, 3 rd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1998, p. 385–434.
11. Elston CW, Ellis IO. Assessment of histological grade. In: Elston CW, Ellis IO (Eds) *The Breast, Systemic Pathology*. Volume 13, 3 rd ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1998, p. 365–84.

12. Skrbinc B, Babic A, Cufer T, Us-Krasovec M. Cytological grading of breast cancer in Giemsa-stained fine needle aspiration smears. *Cytopathology*. 2001; 12: 15-25.
13. Sobin LH, Wittekind Ch. *TNM classification of malignant tumours. International Union Against Cancer (UICC)*. 6th ed. New York: Wiley-Liss; 2002.
14. Sneige N. Utility of cytologic specimens in the evaluation of prognostic and predictive factors of breast cancer: current issues and future directions. *Diagn Cytopathol* 2004; 30: 158-65.
15. Kirbiš Srebotnik I. Določanje estrogenskih receptorjev v vzorcih aspiracijskih biopsij raka dojke. *Onkologija* 2003; 7: 15-7.
16. Nizzoli R, Bozzetti C, Naldi N, Guazzi A, Gabrielli M, Michiara M, Camisa R, Barilli A, Cocconi G. Comparison of the results of immunocytochemical assays for biologic variables on preoperative fine needle aspirates and on surgical specimens of primary breast carcinomas. *Cancer (Cancer Cytopathology)* 2000; 90: 61-6.
17. Us-Krašovec M. Pretočna in slikovna citometrija – novi kvantitativni metodi. *Onkologija* 1998; 2: 40-2.
18. Čufer T, Us-Krašovec M. Pomen pretočno-citometrične analize DNA pri načrtovanju zdravljenja karcinoma dojke. *Onkologija* 2001; 5: 13-4.
19. Trihía H, Murray S, Price K, Gelber RD, Golouh R, Goldhirsch A, Coates AS, Collins J, Castiglione-Gertsch M, Gusterson BA. Ki-67 expression in breast carcinoma: its association with grading systems, clinical parameters, and other prognostic factors-a surrogate marker? *Cancer* 2003; 97: 1321-31.
20. Srebotnik - Kirbiš I, Strojjan Fležar M, Us - Krašovec M. MIB-1 immunostaining on cytological samples: a protocol without antigen retrieval. *Cytopathology* 2004; 15: 1-6.
21. Bofin AM, Ytterhus B, Hagmar BM. TOP2A in HER-2 gene amplification in fine needle aspirates from breast carcinomas. *Cytopathology* 2003; 14: 314-19.
22. Drev P, Golouh R. Določanje onkogenega Her-2 pri karcinomu dojke. *Onkologija* 2002; 6: 14-6.
23. Ball HM, Hupp TR, Ziyaya D, Purdie CA, Kernohan NM, Thompson AM. Differential p53 protein expression in breast cancer fine needle aspirates: the potential for in vivo monitoring. *Br J Cancer* 2001; 85: 1102-5.

Prispelo 31. 8. 2004