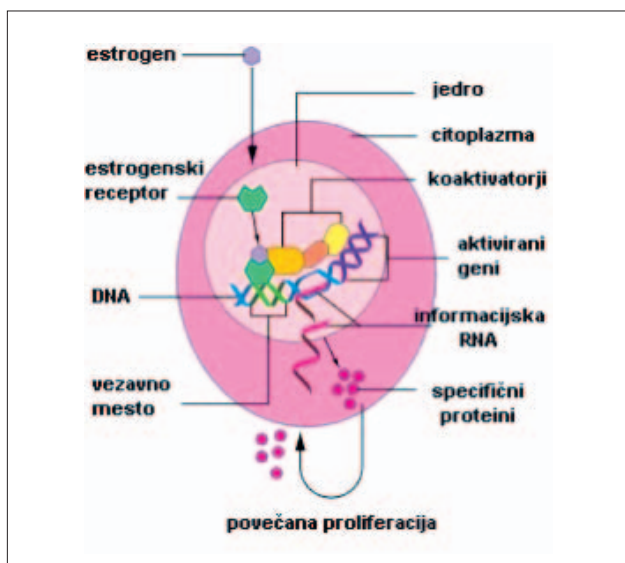


Določanje estrogenskih receptorjev v vzorcih aspiracijskih biopsij raka dojke

Irena Srebotnik Kirbiš

Kaj so estrogenski receptorji?

Estrogenski receptorji (ER) so proteinske molekule v jedru celic. Celice z ER se nahajajo v vseh tkivih, ki so tarča delovanja estrogena. Ko molekula estrogena vstopi v celično jedro, se veže na estrogenski receptor. Nastali kompleks estrogen-receptor se veže na molekulo DNA in sproži prepisovanje nekaterih genov (Slika 1).



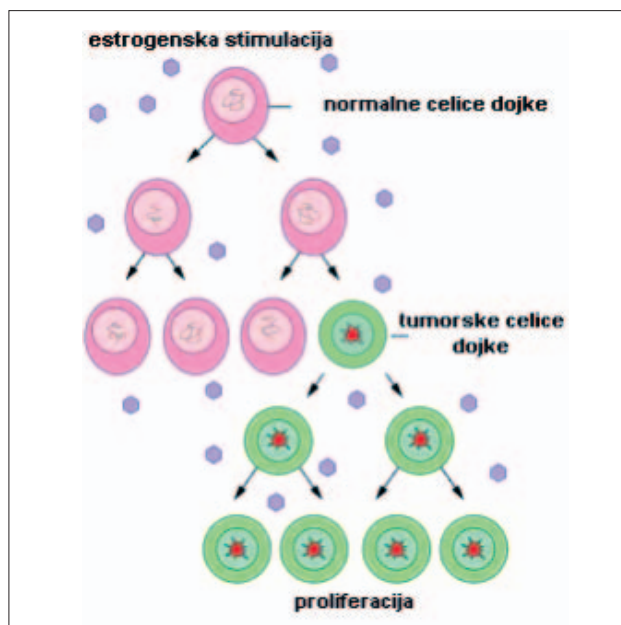
Slika 1. Shematski prikaz delovanja estrogenskih receptorjev

Od tipa celic oziroma tkiva je odvisno, kateri geni se bodo aktivirali oziroma katere beljakovine se bodo sintetizirale. Tako na primer vezava estrogena na ER v celicah dojke sproži proliferacijo celic (Slika 2).

V nasprotju z normalnimi celicami dojke vsebujejo celice raka dojke ER le pri 50—60 % bolnic. Pri tumorjih, ki so ER pozitivni, lahko z uporabo antiestrogenov, kot je npr. tamoxifen, blokiramo vezavo estrogena na receptorje in tako zavremo proliferacijo tumorskih celic (Slika 3).

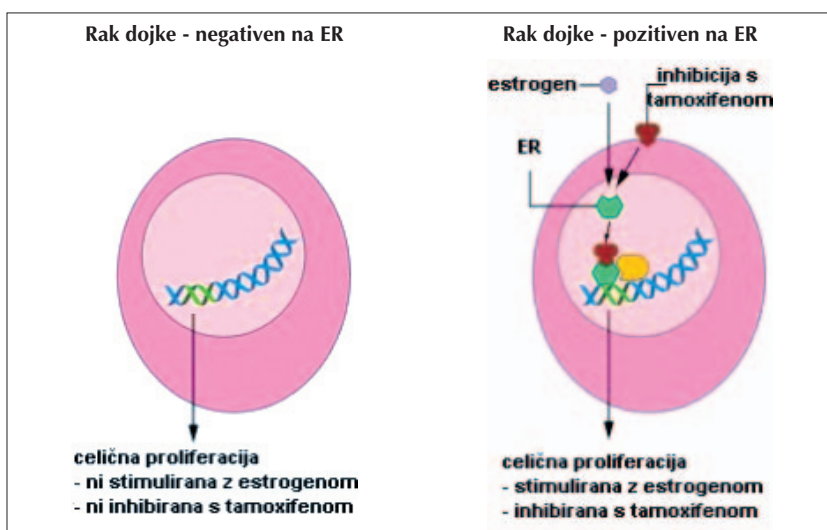
Zakaj določamo estrogenske receptorje pri raku dojke?

Status ER se danes rutinsko določa pri vsakem raku dojke, saj je pomemben



Slika 2. Estrogen stimulira proliferacijo normalnih in tumorskih celic dojke.

napovedni dejavnik odgovora na hormonsko zdravljenje in obdobja brez bolezni pri bolnicah z rakom dojke.



Slika 3. ER pozitiven in ER negativen rak dojke

Kako lahko določamo estrogenske receptorje?

Klasično biokemično metodo za določanje ER v tkivnih vzorcih operativno odstranjenega tumorja je v zadnjem desetletju nadomestila imunohistokemična metoda. Pri tej metodi se na ER v tkivnem vzorcu vežejo specifična monoklonska protitelesa. Mesto vezave nato prikažemo s standardno imunohistokemično reakcijo. Razvoj monoklonskih protiteles, ki prepoznajo ER v standardno pripravljene vzorcu (fiksiranem v formalinu in vklapljenem v parafin), je metodo tako poenostavil, da jo lahko izvajajo skoraj v vsakem diagnostičnem histopatološkem laboratoriju.

Pred operacijo lahko ER določamo imunocitokemično na vzorcih aspiracijskih biopsij. Ta metoda je pomembna pri načrtovanju predoperativnega zdravljenja raka dojke in kadar operacija ni mogoča.

Kakšne so posebnosti predoperativnega določanja ER na vzorcih aspiracijskih biopsij?

Vzorci aspiracijskih biopsij so primerni za imunocitokemično določanje ER, kar so potrdile številne raziskave. V večini teh študij so uporabili monoklonsko protiteleso, ki zahteva poseben večstopenjski postopek priprave vzorcev in se danes večinoma ne uporablja več (H222, ER-ICA, Abbott). Z novim monoklonskim protitelesom (DAKO, 1D5), ki prepoznava ER v standardno pripravljene tkivnih rezinah, pa je na vzorcih aspiracijskih biopsij opravljenih le malo študij. Zato je za zanesljivo določanje ER na vzorcih aspiracijskih biopsij z novim monoklonskim protitelesom treba ugotoviti, kakšna je optimalna priprava in fiksacija vzorcev, ter določiti pogoje za imunocitokemično reakcijo.

Kako na Oddelku za citopatologijo Onkološkega inštituta v Ljubljani določamo ER na vzorcih aspiracijskih biopsij raka dojke?

Na Oddelku za citopatologijo Onkološkega inštituta v Ljubljani uporabljamo imunocitokemijo kot dodatno diagnostično metodo že od leta 1989. Ugotovili smo, da standardno pripravljene razmaze aspiracijskih biopsij, barvane po Papanicolaou, sicer lahko uporabljamo za imunocitokemično barvanje, vendar ne za vse antigene. Za določanje nekaterih površinskih in jedrnih antigenov je primernejša fiksacija preparatov v metanolu.

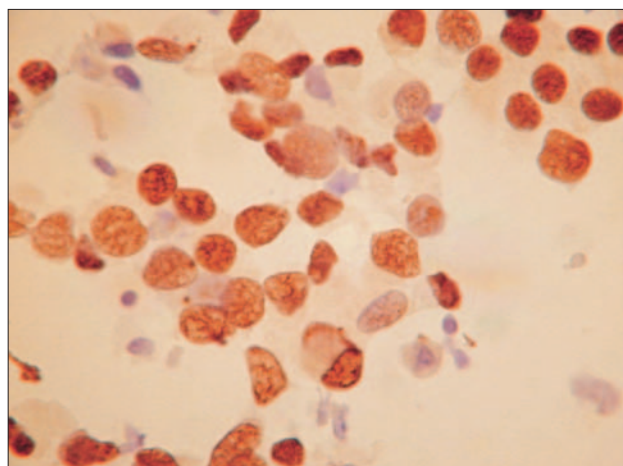
Da bi lahko začeli ER rutinsko določati v vzorcih aspiracijskih biopsij raka dojke, smo morali najprej ugotoviti, kateri izmed obeh načinov priprave in fiksacije preparatov, ki ju uporabljamo v našem laboratoriju (po Papanicolaou barvani preparati; preparati, fiksirani v metanolu), je primeren tudi za določanje ER; določiti smo morali optimalne pogoje za potek imunocitokemične reakcije in nenazadnje smo morali preveriti, ali se rezultati določanja ER na vzorcih aspiracijskih biopsij ujemajo z rezultati določanja ER na tkivnih vzorcih.

V pilotni študiji, ki smo jo opravili na preparatih, pripravljenih iz humane celične linije raka dojke (MCF-7), smo najprej ugotovili, da sta za imunocitokemično določanje ER primerna oba načina fiksacije, ki ju uporabljamo v našem laboratoriju, in določili optimalne pogoje za potek imunocitokemične reakcije.

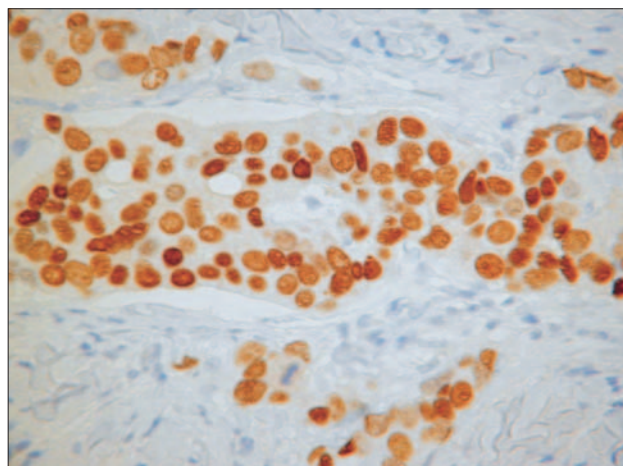
V naslednji fazi smo z retrospektivno in prospektivno študijo potrdili, da se rezultati imunocitokemičnega določanja ER na vzorcih aspiracijske biopsije dobro ujemajo z rezultati določanja ER na ustreznih tkivnih vzorcih (Tabela 1, Slika 4, 5). Najboljše rezultate oziroma

Tabela 1. Rezultati imunokemičnega določanja estrogenskih receptorjev na različno pripravljenih vzorcih aspiracijskih biopsij in ustreznih tkivnih vzorcih.

Tkivni vzorci	Vzorci aspiracijskih biopsij					
	citospini, fiksirani v metanolu		citospini, barvani po Papanicolaou		razmazi, barvani po Papanicolaou	
	-	+	-	+	-	+
-	10	0	11	0	4	0
+	0	42	3	36	1	21
skladnost	52/52 (100 %)		47/50 (94 %)		25/26 (96 %)	



Slika 4. Predoperativni vzorec aspiracijske biopsije raka dojke. Pozitivna reakcija na ER, 40x.



Slika 5. Ustrezen tkivni vzorec operativno odstranjenega tumorja. Pozitivna reakcija na ER, 20x.

popolno skladnost z ustreznimi tkivnimi vzorci smo dobili, če smo citospine, pripravljene iz vzorca aspiracijske biopsije, fiksirali v metanolu.

Zaključek

Status ER se standardno določa na tkivnih vzorcih operativno odstranjenih karcinomov dojke. Na predoperativnih vzorcih aspiracijskih biopsij določamo ER le, kadar operacija ni mogoča in kadar je podatek o statusu ER potreben za načrtovanje zdravljenja že pred operacijo. Da bi lahko zagotovili ustrežno kakovost in zanesljivost določanja ER, mora biti ta preiskava predvidena že ob odvzemu vzorca.

Literatura

1. R. Nizzoli, C. Bozzetti et al. 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 Cytopathol)* 2000; 90: 61–66.
2. A. Marrazzo, P. Taormina et al. Immunocytochemical determination of estrogen and progesterone receptors on 219 fine needle aspirates of breast cancer. A prospective study. *Anticancer Research* 1995; 15: 521–526.
3. T. Sauer, E. Beraki, P. W. Jebsen et al. Assessing estrogen and progesterone receptor status in fine needle aspirates from breast carcinomas. Results on six years of material and correlation with biochemical assay. *Anal Quant Cytol Histol* 1998; 20: 122–126.
4. C. Suthipintawong, A. S-Y. Leong et al. Immunostaining of estrogen receptor, progesterone receptor, MIB-1 antigen, and c-erbB-2 oncoprotein in cytologic specimens: a simplified method with formalin fixation. *Diagn Cytopathol* 1997; 17: 127–133.
5. A. Reiner, J. Spona, G. Reiner et al. Estrogen receptor analysis on biopsies and fine needle aspirates from human breast carcinoma. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Am J Pathol* 1986; 125: 443–449.
6. F. C. Schmitt, M. J. Bento, I. Amendoeira. Estimation of estrogen receptor content in fine needle aspirates from breast cancer using the monoclonal antibody 1D5 and microwave oven processing: Correlation with paraffin embedded and frozen section determinations. *Diagn Cytopathol* 1995; 13: 347–351.

