Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

RADOVI XCI, knj. 30.

Rezaković, Džemal

2002

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/items/bd15ed37-b36d-4fde-9b5a-2482564851dc

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/

ISSN 1512-8245



AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA XCI

Odjeljenje medicinskih nauka

Knjiga 30

Centar za medicinska istraživanja

Knjiga 1

Redakcioni odbor

Jela Grujić-Vasić, Faruk Konjhodžić, Slobodan Loga

Urednik

Džemal Rezaković
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine

SARAJEVO 2002

Korelacija između nivoa prognostičkih markera B stadija (po Dukesovoj klasifikaciji) karcinoma kolona i pojave mikrometastaza u perikoličnim limfnim čvorovima

Ivan Selak[1)], Svjetlana Radović [1)]

Uvod

Karcinomi debelog crijeva predstavljaju 95% svih primarnih kolorektalnih malignoma i drugi su najčešći uzročnik smrti od malignoma. U procjeni biološkog potencijala ove vrste tumora, isključivo su se do danas koristili opće prihvaćeni kliničko-patološki parametri. Klinički parametri obuhvataju procjenu: veličine primarnog netretiranog tumora, prisustva metastaza u regionalnim limfnim čvorovima i udaljenim organima. Patološkim parametrima obuhvaćeni su: histološki tip i histološki gradus tumora, mitotski indeks, prisustvo angiolimfatične invazije, način invadiranja okolnog zdravog tkiva i limfocitarni odgovor domaćina.

Potencijalno subjektivna priroda patohistoloških observacija, kao prognostičkog indikatora tumorskog ponašanja, zahtijeva traganje za objektivnijim prognostičkim markerima. Premda klasični prognostički činioci pokazuju dobar stepen korelacije sa prognozom bolesti, u posljednje vrijeme ukazuje se potreba za određivanjem novijih prognostičkih faktora, na osnovu kojih je moguće odabirati bolesnike za dodatne vidove terapije. Novi prognostički markeri su pokazatelji: diobenog potencijala stanica, obima apoptoze, promjena na supresorskim genima i onkogenima, angiogeneze, otpornosti stanica na djelovanje farmaka, prisustva mikrometastaza u regionalnim limfnim čvorovima i koštanoj srži. Studije ovoga tipa, koje su najdetaljnije urađene kod karcinoma dojke (1, 2) i koje su pokazale visok stepen korelacije između ispitivanih prognostičkih faktora i daljeg ponašanja tumora, mogu da posluže kao prototip za izučavanje karcinoma debelog crijeva. U prognozi karcinoma dojke, pored hormonalnih receptora (estrogena i progesterona) i čitave palete antitijela (13 antitijela) procjenjuje se i prisusutvo mikrometastaza, kako u limfnim čvorovima, tako i u koštanoj srži (3).

[1)] Medicinski fakultet Univerziteta u Sarajevu, Institut za patologiju

Ispitivanja novih prognostičkih faktora u karcinomima debelog crijeva, omogućavaju bolje upoznavanje biološke prirode lezije, čime se otvaraju i nove mogućnosti njegovog liječenja. Značenje nastanka okultnih mikrometastaza u regionalnim limfnim čvorovima za sada je uglavnom poznat samo za karcinome dojke, gdje je pokazano postojanje statistički signifikantne korelacije između njihove pojave i ponovnog javljanja karcinoma (4, 5, 6). Slične studije su rađene u malim serijama kod melanoma (7), kod karcinoma prostate (8) i kolona (9), ali dobijeni rezultati su veoma oprečni.

Cilj istraživanja je da se imunohistohemijskom metodom, koja identifikujući stanične proteine kao indirektne pokazatelje promjena na nivou gena, kao i one koji su pokazatelji diobenog potencijala stanica, odredi potentnost karcinoma kolona u B stadiju (po Dukesovoj klasifikaciji) za davanje mikrometastaza u perikolične limfne čvorove.

Materijal i metode

Predviđeno je da se makroskopski, a potom i mikroskopski pregleda 100 resektata kolona, načinjenih zbog postojanja karcinoma koji se širi kroz zid crijeva i dalje u perikolično masno tkivo, ali koji nije dao metastaze u perikolične limfne čvorove. To su karcinomi kolona u B stadiju po Dukesovoj, odnosno u B1 i B2 stadiju po Astor-Collerovoj modifikaciji Dukesove klasifikacije dubine invazije karcinoma. Pri makroskopskom pregledu resektata bit će utvrđen način rasta tumorskog tkiva (egzofitičan, ulcerozni, infiltrativni ili kombinacija nekih od ova tri osnovna oblika). Svjetlosnom mikrokopijom odredit će se histološki oblik karcinoma, način njegovog rasta u odnosu na okolno zdravo tkivo, stepen diferenciranosti tumora, broj mitoza (u 10 vidnih polja velikog uvećanja), stepen upalnog odgovora domaćina. Okultno sistemsko širenje karcinoma nije detektabilno niti pažljivim kliničkim, radiološkim, biohemijskim, niti standardnim patohistološkim pregledom. U masnom tkivu oko kolona, svakom nađenom perikoličnom limfnom čvoru (najmanje ih mora biti 3) bit će izmjeren najduži promjer. Svi tkivni uzorci tumora i limfni čvorovi u cijelosti, nakon fiksacije u puferovanom 10% neutralnom formalinu, bit će uklopljeni u parafin. Tkivni rezovi debljine 3-5 mikrona prvo će se obojiti standardnom hematoksilin-eozin metodom, a potom i imunohistohemijskom metodom za detekciju tkivnih, odnosno staničnih antigena. U tumorskom tkivu će se primjenom različitih antitijela ići na utvrđivanje genetskog statusa tumora (bcl-2, c-myc, p53, protein nm23, p-125, pS2,), kao i diobenog potencijala tumorskih stanica (Ki-67, EGFR). U limfnim čvorovima će se aplikacijom antitijela za detekciju epitelnih stanica (CK 18, CK 19, CK 20, EMA, LIMA, CEA, SEMA) utvrditi eventualno postojanje okultnih mikrometastaza. Upotreba većeg broja antitijela za detekciju

epitelnih stanica je preporučljiva, jer se na ovaj način minimizira mogućnost maskiranja tumorskih stanica među stanicama normalnog limfatičnog tkiva i dobijanja lažno negativnih nalaza. Imunohistohemija je izuzetno senzitivna metoda kojom može da se među hiljadama stanica limfatičnog tkiva otkrije i jedna jedina epitelna stanica, što nije moguće u standardno bojenim tkivnim uzorcima. Antitijela koja će se koristiti za detekciju tumorskih stanica su visoko specifična za epitelije i ne reaguju sa stanicama normalnog limfatičnog tkiva. Ona reaguju sa antigenima stanične površine, kao i sa citostrukturalnim antigenima. Za svako primijenjeno antitijelo bit će urađeni protokoli za evidentiranje imunohistohemijskih osobitosti antigena, koji će se bazirati na rutinski najviše korištenoj i najjednostavnijoj semikvantitativnoj metodi, čija su testiranja pokazala da daje približno jednake rezultatate kao i neke druge metode koje su daleko sofisticiranije. Također će se određivati broj malignih stanica u mikrometastazama.

Svako korišteno antitijelo bit će komparirano sa njegovom pozitivnom kontrolom. Sva antitijela koja će biti korištena u istraživanju su proizvod kuće DAKO (Kopenhagen) i primjenjuju se isključivo na parafinskim preparatima. Za analizu dobijenih rezultata koristit će se matematičko-statističke metode: procenti, K-kvadrat test, aritmetička sredina i standardna devijacija.

Očekivani rezultati

Kod postojanja malignih oboljenja najvažnije pitanje, na koje se još uvijek ne može dati siguran odgovor, je mogućnost i vremenski period u kojem dolazi do ponovnog javljanja, odnosno daljeg širenja bolesti. Dosadašnje dijagnostičke metode nisu u mogućnosti da sa velikom sigurnošću predvide biološko ponašanje malignih tumora, što se posebno odnosi na njihovu ranu fazu, kada su tumori ograničeni na organ, odnosno tkivo iz kojeg potječu i kada nema metastaza u regionalnim limfnim čvorovima i udaljenim organima. Zato se traga i za iznalaženjem markera koji bi bili dodatni i sigurniji predskazatelji budućeg ponašanja malignoma.

Na osnovu dobijenih rezultata bit će utvrđeno da li postoji i kakve je prirode povezanost između genskog i proliferativnog statusa tumora i prisustva mikrometastaza u perikoličnim limfnim čvorovima. Sam značaj pojave okultnih mikrometastaza, koji je ispitivan za mali broj tumora, nije dovoljno poznat. Mada svaka metastatska stanica nema i potencijal da formira metastatsku leziju na mjestu svog zaustavljanja, mišljenje je da su ove stanice prije preteča metastatskih lezija, nego da se radi samo o njihovom tranzitu kroz limfatično tkivo. Utvrđivanjem proliferativnog i/ili genetskog statusa B stadija karcinoma kolona, koji bi bio u statistički značajnoj korelaciji sa

pojavom mikrometastaza, identifikovala bi se populacija pacijenata visokog rizika za ponovno javljanje bolesti, što bi uvjetovalo i dodatne vidove terapije.

Literatura

1. **Neville AM.:** *Breast cancer micrometastases in lymph nodes and bone marrow are prognostically important.* Ann Oncol 1991 ; 2: 13.
2. **Neville AM, Priče KN, Gelber RD, et al.:** *Axillary node micrometastaes and breast cancer.* Lancet 1991; 337: 110.
3. **Schlimok G, Funke I, Bock B, et al.:** *Epithelial tumor cells in bone marrow of patients with colorectal cancer: Immunocytochemical detection, phemotypic characterisation, and prognostic significance.* J Clin Oncol 1990; 8: 831.
4. **Cote RJ, Chaiwun B, Qu J, et al.:** *Prognostic importance of occult lymph node metastases in patients with breast cancer.* Proc Am Assoc Cancer Res 1992; 33: 202.
5. **Cote RJ, Rosen PP, Hakes TB, et al.:** *Monoclonal antibodies detect occult breast carcinoma metastases in bone marrow of patients with early stage disease.* Am J Surg Pathol 1988; 12: 33.
6. **Cote RJ, Rosen PP, Lesser ML, at al.:** *Prediction of early relapse in patients with operable breast cancer by detection of occult bone marrow micrometastases.* J Clin Oncol 1991; 9: 1749.
7. **Cochran AJ, Wen DR, Morton DL.:** *Occult tumor cells in the lymph nodes of patients with pathological stage I malignant melanoma.* Am J Surg Pathol 1988; 12: 612.
8. **Hering F, Rist M, Roth J, et al.:** *Does microinvasion of the capsulke and/or micrometastases in regional lymph nodes influence dissease-free survival after radical prostactectomy?* Br J Urol 1990; 66: 177.
9. **Isenhart C, Greenson JK, Riče R, et al.:** *Cytokeratin and CC49 staining in pericolic lymph nodes of Duke" s B colon cancer patinets.* Am J din Pathol 1992: 98: 346.

ANU BiH БиХ