

Specifična imunoreaktivnost bolesnica s rakom dojke: ovisnost o proširenosti bolesti, obliku liječenja i dužini preživljenja

Damir Eljuga, Josip Fajdić, Ljerka Eljuga i Marica Vrdoljak

Izvorni znanstveni rad
UDK 618.19-006.6
Prispjelo: 11. studenog 1992.

Središnji institut za tumore i slične bolesti, Zagreb
Medicinski centar, Požega
Klinika za onkologiju i radioterapiju, KBC Rebro, Zagreb

Istraživali smo specifičnu imunoreaktivnost u 58 bolesnica s rakom dojke uporabom testa inhibiranja adherencije leukocita (IAL). Željeli smo doznati da li razina preoperativne reaktivnosti izmjerena ovim testom utječe na 6-godišnje preživljenje bolesnica. Alogenske ekstrakte raka dojke, fibroadenoma i raka rektuma dobili smo ekstrakcijom pomoću 3 M KCl. 72% bolesnica s rakom dojke očituje specifičnu imunoreaktivnost u testu IAL. Bolesnice s uz-

napredovalom bolešću (stadij II. i III.) imaju bolju reaktivnost (82%) od bolesnica I. stadija bolesti (50%). Specifična imunoreaktivnost nakon kirurškog uklanjanja tumora i postoperativne radioterapije opada u bolesnica II. i III. stadija bolesti, a u bolesnica I. stadija bolesti ostaje nepromijenjena tijekom 6 mjeseci promatranja. Više je bolesnica preživjelo 6 godina ako su imale dobru preoperativnu imunoreaktivnost u testu IAL.

Ključne riječi: imunoreaktivnost, IAL-test, rak dojke

UVOD

Brojnim se istraživanjima u suvremenoj onkologiji žele pronaći dovoljno osjetljivi pokazatelji ili tzv. tumorski biljezi koji bi bili dovoljno dobri u prosuđivanju kliničkog tijeka i ishoda bolesti (17). Danas se u prae-nju kliničkog tijeka različitih zloćudnih bolesti, pa tako i raka dojke, koriste različiti pokazatelji. Jedan od bitnijih pokazatelja u liječenju bolesnica koji utječu i na preživljavanje je stadij bolesti, histološki oblik i stupanj zrelosti raka, sadržaj estrogenskih i progesteronskih receptora, a u najnovije vrijeme rabi se i razina ekspresije određenih onkogenih (9,24). U pokušaju prosudbe kliničkog tijeka bolesti u žena oboljelih od raka dojke koristi se dulji niz godina razina, kako nespecifične, tako i specifične, imunoreaktivnosti (3,4,7,8,11,20).

U ovom radu željeli smo promatrati razinu specifične imunoreaktivnosti u bolesnica s rakom dojke, te vidjeti kako proširenost bolesti i oblik liječenja utječu na promjene ove reaktivnosti. Isto tako, željeli smo doznati hoće li bolesnice imati bolju prognozu ako su imale dobru specifičnu imunoreaktivnost prije kirurškog uklanjanja tumora.

BOLESNICE I METODE

U ovoj studiji obuhvatili smo 58 bolesnica koje su se liječile u Središnjem institutu za tumore u Zagrebu. Dob bolesnica bila je između 37 i 70 godina. Karcinom dojke bio je ustanovljen histološkim pregledom tkiva uzetim prilikom uklanjanja tumora. U svih se bolesnica radilo o invazivnom obliku raka s histološkim osobinama medularnog, komedo, koloidnog ili papilarnog karcinoma.

Bolesnice smo s obzirom na proširenost bolesti svrstali u tri skupine sukladno međunarodnoj TNM klasifikaciji.

METODE

Izolacija limfocita iz periferne krvi

Limfocite iz periferne krvi bolesnica izolirali smo primjenom standardne metode koju smo već opisali (3). Ukratko, krv bolesnica i zdravih žena dobili smo punkcijom kubitalne vene i sakupljali je u sterilne epruvete koje su sadržavale heparin, tako da je svaki mililitar krvi bio pomiješan s 25 IJ heparina. Krv smo potom inkubirali u termostatu na +37°C uz 5% CO₂ dva sata.

Za to se vrijeme eritrociti talože na dno epruvete, a limfociti ostanu u plazmi iznad njih. Pasteurevom pipetom pažljivo smo pokupili plazmu s limfocitima i prenijeli je na »Limfoprep« (Nyegaard, Oslo, Norveška) tako da čini zasebni sloj. Volumen plazme i Limfoprepa je u odnosu 2:1. Ovako pripremljeni gradijent centrifugirali smo na 400 g 40 minuta. Nakon centrifugiranja po sredini gradijenta nastane sloj koji sadrži limfocite koje smo pažljivo pokupili pipetom. Stanice smo tri puta isprali toplim medijem DMEM (Flow Laboratories, Irvine, Scotland) koji u svakoj litri sadrži 10 jedinica penicilina (Pliva, Zagreb). Nakon toga odredili smo vijabilnost stanica pomoću 0.05% tripanskog modrila i ona je iznosila više od 95%.

Izolacija tumorskih antigena

Pripravke topljivih tumorskih antigena raka dojke (Carcinoma ductale invasivum), benignog tumora (Fibroadenoma) i karcinoma rektuma (Adenocarcinoma) priredili smo na već opisani način (3). Ukratko, svježe tkivo koje smo dobili nakon kirurškog zahvata najprije smo očistili od vezivnog i masnog tkiva u hladnoj fiziološkoj otopini. Sve postupke izolacije izvodili smo na +4C. Na jedan dio tumorskog tkiva dodali smo pet dijelova hipertonične otopine kalijevog klorida (3M KCl) (26). Tkivo smo isjeckali na sitne komadiće, a zatim ga homogenizirali pomoću električnog homogenizatora. Tako pripremljeni homogenizirani materijal inkubirali smo na +4C uz stalno miješanje pomoću magnetske mješalice, tijekom 24 sata. Nakon toga suspenziju smo centrifugirali na 40 000 g u trajanju od jednog sata. Supernatant smo pretočili u crijevo za dijalizu (Fisher membrana, 18 FO, 100 FT) i dijalizirali ga dva puta u deseterostruko većem volumenu fosfatnog pufera u trajanju od 24 sata. Dijalizirani sadržaj iz crijeva ponovno smo centrifugirali na 40 000 g u trajanju od 20 minuta. U ovako pripremljenom supernatantu odredili smo koncentraciju proteina. Antigenske pripravke koje nismo odmah upotrebljavali u testu IAL rastočili smo u plastične epruvete i pohranili ih u tekućem dušiku.

Test inhibiranja adherencije leukocita (IAL)

Ovaj test inhibiranja adherencije leukocita već smo potanko opisali (3). Ukratko, krv bolesnica i zdravih žena dobili smo punkcijom kubitalne vene i sakupljali je u epruvete koje su sadržavale heparin. Nakon toga krv smo inkubirali u termostatu na +37C uz 5% CO₂ dva sata. Za to vrijeme eritrociti su se staložili na dno, a iznad njih je ostao sloj plazme bogat bijelim krvnim stanicama. Uzeli smo potom plazmu i centrifugirali je na 200 g u trajanju od 5 minuta. Nakon odlijevanja supernatanta, talogu stanica doda se oko 15 mililitara hladne izotonične otopine 0.83% NH₄Cl u 0.001 M fosfatnom puferu (pH 7.2) i ostavi se stajati na +4C 15 minuta kako bi se uklonili preostali eritrociti. Nakon toga slijedi ispiranje (tri puta) u hranjivom mediju DMEM. Na taj se način odstranjuju cirkulirajuća protutijela, kompleksi i dr. koji bi eventualno mogli utjecati na adherenciju. U staklenim epruveticama s ravnim

dnom suspendirali smo 10⁵ leukocita u 0.5 ml medija. Kulturama leukocita priređenim na taj način dodavali smo antigenske pripravke raka dojke, te kontrolne antigene fibroadenoma i raka rektuma. Inkubacija je trajala 2 sata na +37C uz 5% CO₂. Test IAL izvodili smo u duplikatu. Budući da je više od 95% zdravih žena imalo IAL indeks ≤15, sve vrijednosti koje su bile >15 smatrali smo pozitivnim. Indeks IAL izračunali smo po sljedećoj formuli: IAL = A-B/A.A = % adherencije leukocita u kulturi bez antigena; B = % adherencije leukocita u kulturi s antigenom.

Statistička obrada rezultata

Rezultate smo statistički obradili pomoću Studentova t-testa. Razlika između dviju vrijednosti smatrana je statistički značajnom ako je vrijednost p bila 0.05 ili manja.

REZULTATI

Vrijednosti specifične imunoreaktivnosti u bolesnica s rakom dojke

Za procjenu specifične imunoreaktivnosti bolesnica oboljelih od raka dojke koristili smo test inhibiranja adherencije leukocita (IAL). Taj test smatra se in vitro pokazateljem stanične imunosti, a osniva se na svojstvu leukocita senzibilizirane jedinice pa gube sposobnost ljepljenja za podlogu kada su u dodiru sa specifičnim antigenom.

Rezultati testa IAL u bolesnica s rakom dojke, bolesnica s benignim tvorbama u dojci te zdravih žena prikazani su na slici 1. Srednja je vrijednost indeksa IAL značajno viša u svih bolesnica s karcinomom dojke bez obzira na stupanj proširenosti bolesti. S napredovanjem bolesti (stupanj II.) indeks IAL značajno raste i zadržava se približno na istoj razini i u bolesnica s III. stupnjem bolesti.

Nakon kirurškog uklanjanja tumora reaktivnost leukocita značajno opada u skupini bolesnica II. i III. stupnja bolesti, međutim, reaktivnost leukocita u skupini bolesnica I. stupnja ostaje nepromijenjena. Šest mjeseci nakon kirurškog uklanjanja tumora, reaktivnost bolesnica II. i III. stupnja i dalje je značajno niža u usporedbi sa stanjem reaktivnosti prije operacije. Međutim, reaktivnost leukocita u bolesnica I. stupnja bitnije ne odstupa od reaktivnosti opažene kako prije tako i nakon operacije.

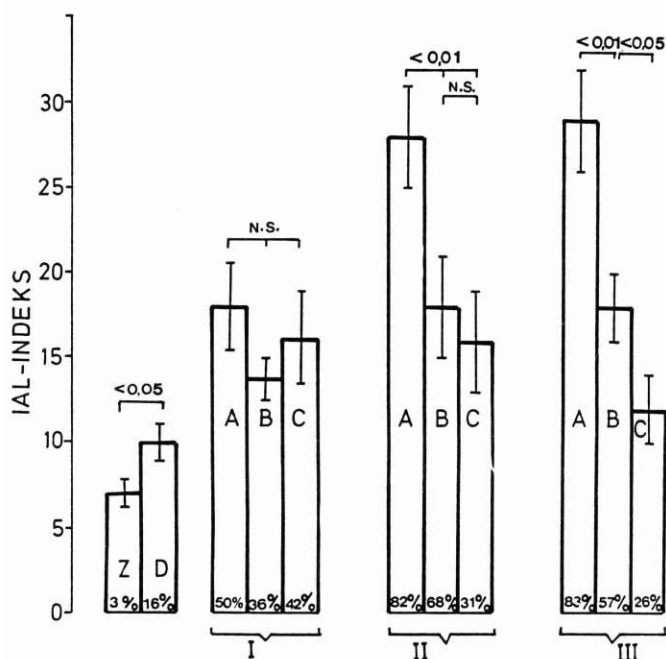
Na slici 1. prikazana je i raspodjela indeksa IAL u bolesnica I. II. i III. stupnja bolesti u tijeku terapije. Kao što je vidljivo, u bolesnica s I. stupnjem bolesti srednja je vrijednost indeksa IAL prije kirurškog uklanjanja tumora 17, a 50% bolesnica imalo je indeks IAL viši od 15. Neposredno nakon kirurškog uklanjanja tumora postotak bolesnica s pozitivnim indeksom IAL pada na 36%, a 6 mjeseci nakon kirurškog uklanjanja tumora postotak se bolesnica s pozitivnim indeksom IAL bitnije ne mijenja (42%).

SLIKA 1.

Specifična imunoreaktivnost u bolesnica s I., II. i III. stupnjem bolesti prije kirurškog uklanjanja tumora (A), nakon (B) i poslije 6 mjeseci, a po završetku radioterapije (C). Brojevi unutar stupića označuju postotak bolesnica koje su imale pozitivan indeks IAL (>15). U kontrolnoj skupini testirali smo 28 zdravih žena i 25 žena s dobroćudnim tumorima u dojci (D). U I. stadiju bolesti promatrali smo 19, u II. 16, a u III. 23 bolesnice.

FIGURE 1.

Specific immunoreactivity in patients with stages I, II and III of disease (A) before tumor resection, (B) after and (C) six months after radiotherapy. The numbers within the small columns mark the percentage of patients with a positive IAL index (>15). In the control group, 28 healthy and 25 women with benign breast tumors (D) were tested. Nineteen patients in the first stage, 16 in the second stage and 23 in the third stage of disease were observed.



U bolesnica s II. stupnjem bolesti slika stanja specifične imunoreaktivnosti bitno se razlikuje od stanja u bolesnica s I. stupnjem bolesti. Naime, čak 82% bolesnica ima pozitivan indeks IAL, a nakon kirurške terapije postotak bolesnica s pozitivnim indeksom IAL biva niža (68%). Šest mjeseci nakon kirurškog uklanjanja tumora samo je 31% bolesnica imalo pozitivan indeks IAL.

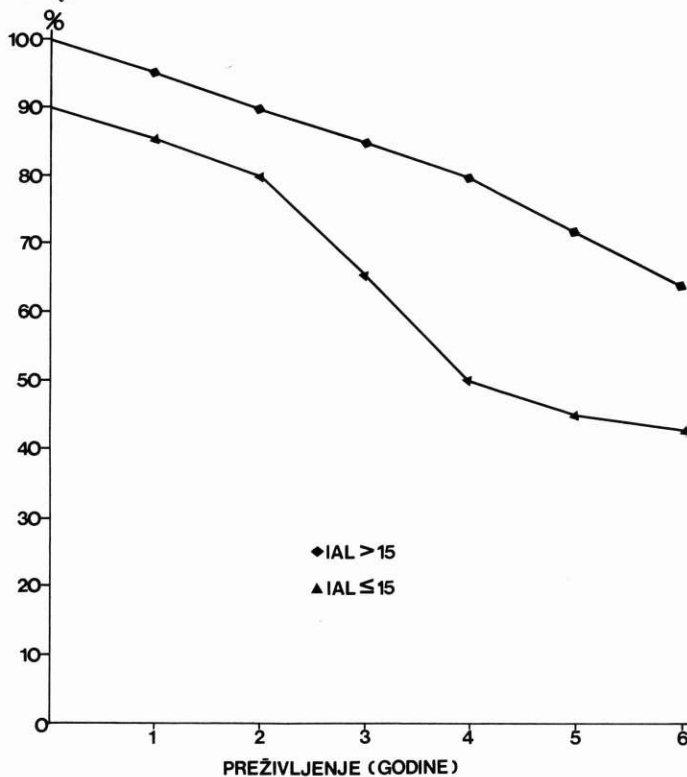
U bolesnica s III. stupnjem bolesti 83% imalo je pozitivan indeks IAL prije kirurškog uklanjanja tumora. Nakon kirurškog uklanjanja tumora broj bolesnica čiji su leukociti sposobni pozitivno reagirati je niži i iznosi 57%, a nakon 6 mjeseci taj broj i dalje opada i samo je 26% bolesnica imalo pozitivan indeks IAL.

SLIKA 2.

Preživljenje bolesnica s rakom dojke s obzirom na preoperativnu razinu specifične imunoreaktivnosti u testu IAL. Više je bolesnica preživjelo 6 godina ako su preoperativno imale pozitivan indeks IAL ($p < 0,05$).

FIGURE 2.

The survival of patients with breast cancer with regard to the preoperative level of specific immunoreactivity in the IAL test. The number of patients that survived 6 years was greater if they had a positive IAL index ($p < 0,05$) preoperatively.



Razina preoperativne specifične reaktivnosti u testu ial i dužina preživljenja bolesnica

Željeli smo, nadalje, doznati da li razina specifične imunoreaktivnosti u bolesnica s rakom dojke može utjecati na dužinu preživljenja. Drugim riječima, da li bolesnice s rakom dojke žive duže ako su imale dobru specifičnu imunoreaktivnost u testu IAL prije kirurškog uklanjanja tumora dojke. Dobivene rezultate grafički smo prikazali na slici 2. Značajno je više bolesnica preživjelo 6 godina ako su preoperativno imale pozitivnu imunoreakciju (>15) u testu IAL. U prvoj je skupini bilo 68% bolesnica, a u drugoj 45% ($p < 0,05$).

RASPRAVA

Naši dosadašnji rezultati nedvojbeno su pokazali da se u bolesnica s rakom dojke odvija imunološka reakcija koja je uperena protiv tumora kojeg bolesnica ima. (3,5,6.) Intenzitet ove reakcije u bolesnica uspjeli smo izmjeriti koristeći test inhibiranja adherencije leukocita (IAL). Taj se test koristi u kliničkoj imunologiji za otkrivanje stanične imunoreaktivnosti. Ovim smo testom, također, pokazali u uvjetima in vitro odvijanje imunološke reakcije samo onda ako smo leukocitima

bolesnica s rakom dojke ponudili tumorski antigen raka dojke. Kada smo ponudili drugi tumorski antigen (ekstrakt raka rektuma ili fibroadenoma) reakcije nije bilo. U organizmu bolesnica odvija se imunoreakcija jer su izolirani limfociti prepoznali samo onaj antigen s kojim su bili u dodiru in vivo (5). Konačni cilj ovih istraživanja jest želja da se razina imunoreakcije izmjerena testom IAL iskoristi u prosudbi kliničkog ishoda bolesti. Rezultati specifične imunoreaktivnosti bolesnica s rakom dojke koji govore o međusobnoj ovisnosti specifične imunoreaktivnosti, proširenosti i ishodu bolesti vrlo su rijetki u literaturi. Razloge tome valja tražiti u poteškoćama izoliranja tumorskih antigena i uspostavi reproducibilnosti testova za otkrivanje stanične imunoreakcije. Antigenski ekstrakt raka dojke kojeg smo izolirali i opisali u ovom radu poslužio je kao antigen u proizvodnji monoklonskih protutijela. Dobivena monoklonska protutijela bila su približno onoliko specifična kao i specifičnost primijenjenog testa IAL (1).

Razina specifične imunoreaktivnosti u bolesnica s rakom dojke je viša što je bolest uzela više maha (slika 1). Nakon kirurškog uklanjanja tumora, reaktivnost leukocita prema alogenskom ekstratu tumora značajno opada u skupini bolesnica II. i III. stupnja bolesti, dok se gotovo ne mijenja u bolesnica s I. stupnjem bolesti. Šest mjeseci nakon kirurškog uklanjanja tumora, reaktivnost leukocita periferne krvi bolesnica II. stupnja bolesti ostaje nepromijenjena u odnosu na razinu reaktivnosti neposredno nakon operacije. Međutim, reaktivnost leukocita periferne krvi bolesnica s III. stupnjem bolesti se značajno smanjuje u usporedbi sa stanjem iste reaktivnosti prije i nakon operacije. Zanimljivo je da reaktivnost leukocita periferne krvi u testu i IAL za cijelo to vrijeme ostaje nepromijenjena u bolesnica koje su imale I. stupanj proširenosti bolesti.

Reaktivnost leukocita u testu IAL izražena kao srednja vrijednost indeksa u bolesnica s benignim tvorbama u dojci (10.3) značajno je veća u usporedbi s reaktivnošću leukocita periferne krvi zdravih žena (7.0). Međutim, samo je 16% bolesnica s benignim tvorbama u dojci imalo pozitivan test IAL (indeks >15) u usporedbi s 50% pozitivnih u skupini bolesnica I. stupnja, 82% u skupini bolesnica II. i 83% u skupini bolesnica III. stupnja.

Ti se rezultati uglavnom slažu s rezultatima većine autora, jedino što se postoci pozitivnih testova IAL po pojedinim stupnjevima bolesti ne podudaraju s rezultatima drugih (10). Tako su Thompson i sur. (23) tijekom osmogodišnjeg praćenja bolesnica s benignim tvorbama u dojci opazili učestalost pozitivnih IAL testova u oko 10%, a Marquet i sur. (12) između 10 i 24%. Pronađeno je, nadalje, da su bolesnice s benignim tvorbama u dojci čiji su leukociti dobro reagirali u testu IAL imali veću učestalost hiperplazija i displazija, za razliku od onih čiji su leukociti pokazivali negativan rezultat u testu IAL (13). Iz ovih studija proizlazi da se u određenom broju bolesnica s »benignim lezijama« očituje prisutnost tumorskih antigena.

Postotak bolesnica čiji leukociti pozitivno reagiraju opada nakon kirurškog uklanjanja tumora, a naročito nakon provedene postoperativne radioterapije, posebice u bolesnica koje su imale III. stupanj bolesti. Drugi su autori objavili da radioterapija izrazito potiskuje reaktivnost leukocita u testu IAL i to u tolikoj mjeri da gotovo unutar nekoliko dana nakon odpočinjanja radioterapije svaki pozitívni IAL test biva negativan (23). Mi smo uočili snažan učinak radioterapije, ali samo u bolesnica s uznapredovalom bolešću (stadij II i III).

Kada smo promatrali preživljenje bolesnica s rakom dojke, opazili smo da je 6 godina preživjelo značajno više bolesnica, čak 68% ako su imale pozitivnu preoperativnu imunoreakciju u testu IAL, u usporedbi s 45% preživjelih u istom vremenskom razdoblju ako su imale negativnu imunoreakciju u testu IAL. Promatrajući krivulje preživljenja nakon 6 godina, uočavamo da će se najvjerojatnije za koju godinu spojiti i imati izgled »ribe« (od engl. »fish – like curve«). Ovdje želimo naglastiti da smo ove dvije skupine bolesnica načinili isključivo na osnovi razine preoperativne specifične imunoreaktivnosti. S obzirom na broj bolesnica kojima smo promatrali preživljenje (u jednoj skupini 21, a u drugoj 22) nismo mogli učiniti daljnje podjele uzimajući u obzir i druge već poznate prognostičke čimbenike raka kao što su stupanj proširenosti, dob, sadržaj estrogen-skih i progesteronskih receptora u citosolu tumorskoga tkiva i dr. Stoga bi ovu studiju valjalo nastaviti i u njoj obuhvatiti puno veći broj bolesnica kako bi se mogli promatrati svi prognostički čimbenici raka dojke.

U najnovije vrijeme u praćenju kliničkog tijeka bolesti bolesnica s rakom dojke koriste se brojni tumorski biljezi kao što su TPA (od engl. tissue polypeptide antigen), karcinoembrionski antigen (CEA), MCA (od engl. mucin – like carcinoma – associated antigen), CA-15 – 3, ili ekspresija haptoglobina (Hpr) ili pak određenih onkogeni kao što su erbB2, MDr1 i dr. (2,15,16,17,18,19,21,22,25). Međutim, pokazalo se da je svaki od spomenutih prognostičkih čimbenika nedovoljno osjetljiv. Prag osjetljivosti se podiže ukoliko se istodobno određuje više tumorskih biljega (16). Postoji mišljenje da bi ove biljege valjalo određivati paralelno s razinom specifične imunoreaktivnosti u testu IAL (14).

U zaključku možemo kazati da se u bolesnica s rakom dojke odvija imunološka reakcija protiv tumora kojeg ima, te da intenzitet ove reakcije izmjeren u bolesnica prije kirurškog uklanjanja tumora može imati određeno prognostičko značenje. Daljnjim istraživanjima specifične imunoreakcije primjenom ovog ili drugih testova za otkrivanje specifične imunoreaktivnosti, te istodobnim praćenjem razine tumorskih biljega za rak dojke, doznat će se puno više o međusobnom odnosu imunološkog sustava domaćina i tumora, što može biti od dodatne koristi u kliničkoj prosudbi ishoda bolesti.

LITERATURA

1. Beketić – Orešković L, Šarčević B, Dobec D, Harjaček M, Malenica B, Novak D. Identification of breast cancer antigen by monoclonal antibody CDI 315 B. *Period biol* 1990;92 (suppl 3):100. (Summary).
2. Čufer T, Bračko M, Goehde W, Lamovec J, Košmelj K. Correlation of DNA – ploidy and estrogen and progesterone receptor content in primary breast cancer. *Adv Radiol oncol*, Benulić T, Serša G, Kovač V. (urednici) 1992;280.
3. Eljuga D. Specifična imunoreaktivnost bolesnica s rakom dojke. *Libri Oncol* 1992;(u tisku).
4. Eljuga D, Rogan – Grgas J, Vujičić N, Nola P, Malenica B. Anamnestička imunološka reaktivnost oboljelih od raka dojke. *Liječ Vjesn* 1985;107:181-3.
5. Eljuga D, Rogan – Grgas J, Vujičić N, Posavac M, Malenica B. Immune functions of breast cancer patients. *Period Biol* 1986;88 (suppl 1/A):519-21.
6. Eljuga D, Rogan-Grgas J, Vujičić N, Šamija M, Malenica B. Antitumor immunity in breast cancer patients: evaluation after surgery and correlation with disease – free interval. *Period Biol* 1989;91/1:59-60.
7. Eljuga D, Rogan-Grgas J, Vujičić N, Šamija M, Pašalić I, Malenica B. Imunoreaktivnost u bolesnica s karcinomom dojke: ovisnost o stupnju bolesti i prognostička vrijednost. *Libri Oncol* 1988; 17/2-3:91-101.
8. Fuks A. Immunologi of breast cancer. Part I. u: Margolese, R. G. (urednik) *Churchil Livingstone*, New York, Edinburgh, London, Melbourne 1983;249.
9. Henderson I.C, Harris J. R, Kinne D. W, Hellman S. *Cancer of the breast. U: Cancer – Principles and Practice of Oncology*. De Vita V. T. Jr, Hellman S, Rosenberg S. A, (urednici) 3 rd Edition. *Lippincot Company*. Philadelphia: 1989; 1197.
10. Lopez M, O'Connor R, Mac Farlane J. K, Thomson D. M. P. The natural history of antitumor immunity in human breast cancer asayed by tube leucocyte adherence inhibition. *Br J Cancer* 1978;38:660 – 8.
11. Mandeville R, Lamourex G, Legault – Poisson S, Poisson R. Biological markers and breast cancer. A multiparametric study II. Depressed immune competence. *Cancer* 1982;50:1280 – 8.
12. Marquet R, Eggermont L, Tank B, Westerbroek D, Jeekel H. Evaluation of the tube leucocyte adherence inhibition (LAI) assay in breast and gastrointestinal cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 1982;1:143-5.
13. Monson R. R, Yen S, Mac Mahan B. Chronic mastitis and carcinoma of the breast. *Lancet* II 1976;224 – 6.
14. Nicolini A. EACR XI, Genova, 1991. Usmeno priopćenje.
15. Nicolini A, Carpi A, Di Marco G, Giuliani L, Giordani R, Palla S. A rational postoperative follow – up with carcinoembryonic antigen, tissue polypeptide antigen and urinary hydroxyproline in breast cancer patients. *Cancer* 1989;63:2037-46.
16. Nicolini A, Colombini C, Luciani L, Carpi A, Giuliani L. Evaluation of serum CA 15-3 determination with CEA and TPA in the postoperative follow – up of breast cancer patients. *Br j Cancer* 1991;64:154 – 8.
17. Novaković S., Serša G. Tumors markers in clinical oncology. *Adv Radiol Oncol*. Benulić T, Serša G, Kovač V. (urednici) 1992;214-20.
18. Pavelić Z. Središnji institut za tumore, usmeno priopćenje, 1992.
19. Robertson J. F. R, Pearson D, Price M. R, Selby C, Pearson J, Blamey R. W, Howell A. Prospective assessment of the role of five tumor markers in breast cancer. *Brit J Surg* 1974;61:549-62.
20. Roberts M.M, Williams W.J. The delayed hypersensitivity reaction in breast cancer. *Brit J Surg* 1974;61:549-62.
21. Roux Dosseto M, Romain S, Dussault N, Desideri C, Piana L, Bonnier P, Tubiana N, Martin P. M. c-myc gene amplification in selected node – negative breast cancer patients correlates with high rate of early relapse. *Eur J Cancer* 1992;28A:1600-4.
22. Shurbaji M. S, Pasternack G. R, Kuhajda F. P. Expression of haptoglobin – related protein in primary and metastatic breast cancers. A longitudinal study of 48 total tumors. *Am J Clin Path* 1991;96:238 – 42.
23. Thomson D. M. P. Immunology of breast cancer. Part II U: Margalese R. G. (urednik). *Breast cancer*, Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne 1983;268.
24. Walker K. J, McClelland, Candsliih W, Blamey R. W, Nicholson R. I. Heterogeneity of oestrogen receptor expression in normal and malignant breast tissue. *Europ J Cancer* 1992;28:34 – 7.
25. Wallner J, Depisch D, Hopfner M, Haider K, Spona J, Ludwig H, Pirnei R. MDR1 gene expression and prognostic factors in primary breast carcinoma. *Eur J Cancer* 1991;27(11):1352 – 5.
26. Yonemoto R. H, Fujisawa T, Waldman S. R. Effect of serum blocking factors and leukocyte adherence inhibition in breast cancer patients specificity and correlation with tumor burden. *Cancer* 1978;41(4):1289-93.

Abstract

THE SPECIFIC IMMUNOLOGICAL REACTIVITY IN BREAST CANCER PATIENTS

Damir Eljuga, Josip Fajdić, Ljerka Eljuga and Marica Vrdoljak

Central Institute for Tumors and Allied Diseased
Požega Medical Center

Department of Oncology and Radiotherapy,
University Hospital Center Rebro

We used the leukocyte adherence inhibition (LAI) assay in detecting the specific immune reactivity and monitoring of the dynamics of this immunity in 58 breast cancer patients. We wanted to find out if the level of preoperative specific immune reactivity is in correlation with the survival rate. Soluble antigenic

preparations from a breast cancer, rectal carcinoma and fibroadenoma were obtained with 3M KCI. 72% of breast cancer patients showed the specific reactivity to the allogeneic KCI extract from reast carcinoma. Stage II and III patients react better than stage I patients (82% versus 50%). The specific reactivity after surgery and postoperative radiotherapy decreased in stage II and III patients. The reactivity in stage I patients was at the same level during six months. The LAI reactivity prior to surgery correlates with significantly higher 6-years survival rate.

Key words: immunological reactivity, LAI assay, breast cancer