

Patientpopulation

Dette bilag omhandler udtagning og håndtering af:

1. Tumorstvæv udtaget ved grovnålsbiopsi hos patienter over 59 år, der har en tumor i brystet der er 2 cm eller større og som har givet samtykke (bilag 9) til at der udtages væv til forskning.
2. Tumorstvæv udtaget ved operation for brystkræft hos patienter der i henhold til 1.) fik udtaget tumorstvæv til forskning, som givet samtykke (bilag 11) og deltager i DBCG 07-REAL.

Diagnostik

Der udtages mindst to grovnålsbiopsier med 1,2 mm nål. Det er nødvendigt at kende hormonreceptorstatus for at kunne udvælge patientpopulationen. Den histo-patologiske vurdering udføres som foreskrevet i DBCG's retningslinjer for patologi (www.dbcg.dk) og som rutine udføres ER, PgR, HER2 og KI67 (sidstnævnte scores som ER med % positive celler).

Grovnålsbiopsi til forskning

Der udtages fire grovnålsbiopsier med 1,2 mm nål til forsøg. Inden biopsierne udtages tilkaldes den forskningssygeplejerske der er knyttet til DBCG 07-REAL og denne kontrollerer at patienten efter behørig mundtlig og skriftlig information har givet samtykke. Biopsierne monteres på et præparatglas der placeres i en vævbeholder med fugtet gaze (fysiologisk saltvand) i bunden for at hindre udtørring. Biopsierne overbringes / sendes ufikserede til patologi-afdelingen. Fremsendelsen skal ske hurtigst muligt og gerne på is, således at biopsierne fremsendes nedkølet, men uden indfrysning. Det tilsigtes at biopsierne indeholder minimum 50% tumorstvæv.

Frisk frys Der nedfryses to grovnålsbiopsier: En grovnålsbiopsi nedfryses med tissuetek i foliebakke placeret i kryorør, og én grovnålsbiopsi nedfryses tørt i foliebakke placeret i kryorør (nedfrysning via flydende kvælstof eller isopentan) med projektregistreringsnummer iht REAL protokollen. Det nedfrosne væv skal opbevares ved -80° Celcius.

Fikseret To grovnålsbiopsier placeres i hver sin kapsel, fikseres i formalin og indstøbes i paraffin. Klodserne markeres og registreres i henhold til patologi-afdelingens rutine.

Operationspræparat

Præparatet håndteres i henhold til DBCG's retningslinjer for patologi efter præoperativ behandling (49, www.dbcg.dk) . Operationspræparatet vurderes mhp. resttumor (pCR versus resttumor), i henhold til modificeret Miller-Payne (27, www.dbcg.dk). Ved duktalt og lobulært karcinom gentages vurdering af malignitetsgrad.

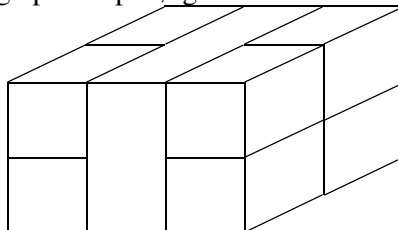
Ved fund af makroskopisk resttumor udtages der afhængig af tumorstørrelsen 5-10 snit fra tumorområdet.

Hvis der ikke er en makroskopisk resttumor indstøbes det oprindelige tumorområde (markeret med Coil) i sin helhed. På operationspræparatet gentages ER, PgR, HER2 og KI67 (scores som ER med % positive celler).

Væv fra operationspræparat til forskning

Under forudsætning af at den diagnostiske udredning tillader det anvendes en 10 x 10 x 10 mm stor tumorblok til forskning.

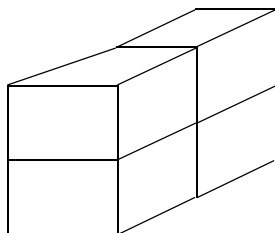
Blokken der er udtaget til forskning opdeles på følgende vis:



Det 10x10x10 mm store vævsstykke opskæres i tre og det mellemste fikseres i formalin og indstøbes i paraffin.

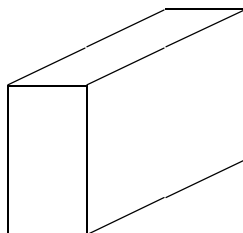
Frisk frys

En blok på 3x10x10 mm deles i 4 blokke a 3x5x5 mm.



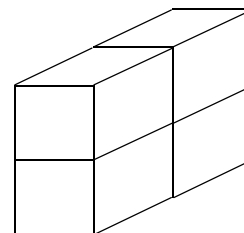
Formalin fiksering

En blok på 3x10x10 mm fikseres i formalin



RNA/DNA

En 3x10x10 mm blok deles i 4 blokke a 3x5x5 mm.



Udtagning af vævsstykker

Frisk frys *1 vævsstykke:* Efter deling af vævsstykket i fire (hver ca. 3x5x5 mm) nedfryses vævsstykkerne tørt i hver sit kryorør (flydende kvælstof eller isopentan), der markeres og registreres med projektregistreringsnummer. Vævet skal opbevares ved -80° Celcius.

RNA/DNA *2 vævsstykke:* Efter deling af vævsstykket i fire (hver ca. 3x5x5 mm) nedfryses vævsstykkerne i tissuetek i hver sit kryorør som markeres og registreres med patientens projektregistreringsnummer. Vævet skal opbevares ved -80° Celcius.

Fikseret En blok fikseres i formalin og indstøbes i paraffin. Klodsen markeres og registreres med patientens projektregistreringsnummer.

Forsendelse og central behandling af vævet

1. Frisk frys og RNA/DNA

Ved forsendelsen skal vævet fortsat være nedfrosset og skal umiddelbart ved modtagelsen registreres og placeres i -80° Celsius fryser, hvorfor fremsendelse ikke bør foretages torsdag/fredag op mod en weekend. Frisk frosset væv og kryorør sendes til (fremsendes efter 1. August 2009) :

Patologiafdelingen

Att. overlæge Anne-Vibeke Lænkholm/ afdelingsbioanalytiker Dorte Holm

Rigshospitalet

Frederik V's vej 11, 4. Sal., 2100 København Ø

anne-vibeke.laenkholtm@rh.regionh.dk

Telefon 35455448/35455447, fax 35455445

Vævet fremsendes med en Patologiformular (forefindes på DBCG's hjemmeside) efter aftale med ovenstående. Vævet opbevares indtil fremsendelse ved minus 80 grader i specielle opbevaringsbokse.

På Patologiafdelingen, Rigshospitalet ekstraheres RNA og DNA og udportioneres.

2. Paraffin blokke

Den paraffinindstøbte formalin fikserede blok sendes til:

Patologiafdelingen
Att. overlæge Birgitte Bruun Rasmussen
Herlev Hospital
Herlev Ringvej 75, 2730 Herlev
bibrra01@heh.regonh.dk
Telefon 44884488, fax 44883711

Blokken og om muligt tilhørende HE-snit sendes med en Patologiformular (forefindes på DBCG's hjemmeside). På patologiafdelingen, Herlev Hospital konstrueres fra tumorblokken to TMA'er med hver 1 core á 2 mm.

Donor-blokken opbevares på patologiafdelingen i Herlev indtil det nødvendige antal patienter er indgået i forsøget og man har sikret sig at TMA-blokken er evaluerbar. Afhængig af tilkendegivelsen på patologiformularen returneres donor-blokken herefter eller sendes til opbevaring i DBCG's biobank.