

# OBSAH

|                                                                                                                              |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Souhrn</b> .....                                                                                                          | <b>3</b>  |
| <b>1. Úvod</b> .....                                                                                                         | <b>4</b>  |
| <b>2. Teoretická část</b> .....                                                                                              | <b>5</b>  |
| 2.1. Česká časopisová a internetová literatura.....                                                                          | 5         |
| 2.1.1. HER-2/neu receptor - struktura a funkce v normální tkáni .....                                                        | 5         |
| 2.1.2. Receptor HER-2/neu v nádorech.....                                                                                    | 6         |
| 2.1.3. HER2/neu onkogen .....                                                                                                | 7         |
| 2.1.3.1. Dynamika amplifikace genu c-erbB-2 v synchronních benigních, předmaligních, maligních a metastatických lézích ..... | 8         |
| 2.1.3.2. Exprese receptoru HER-2/neu v prognóze a v predikci odpovědi na léčbu.....                                          | 9         |
| 2.1.4. Herceptin.....                                                                                                        | 10        |
| 2.1.5. Léčba jinými preparáty .....                                                                                          | 11        |
| 2.1.6. Možnosti stanovení receptoru HER-2/neu a genu c-erbB-2 v invazivním karcinomu prsu .....                              | 12        |
| 2.1.6.1. Sérový HER-2 - biologie, detekce, klinický význam .....                                                             | 14        |
| 2.1.6.2. Biočipové technologie .....                                                                                         | 14        |
| 2.1.7. Statistické metody .....                                                                                              | 17        |
| 2.1.8. Nádorová patologie dělohy.....                                                                                        | 18        |
| 2.1.8.1. Nádory děložního těla .....                                                                                         | 18        |
| 2.1.8.2. Nádory děložního hrdla .....                                                                                        | 19        |
| <b>3. Zahraniční literatura</b> .....                                                                                        | <b>20</b> |
| 3.1. Fyziologický výskyt HER2 v děložní sliznici.....                                                                        | 20        |
| 3.2. Nenádorové choroby dělohy .....                                                                                         | 20        |
| 3.3. Nádory dělohy.....                                                                                                      | 21        |
| 3.3.1. Karcinomy endometria .....                                                                                            | 21        |
| 3.3.1.1. Pouhý popis exprese.....                                                                                            | 21        |
| 3.3.1.1.1. Různé nebo nerozlišené endometriální karcinomy .....                                                              | 21        |
| 3.3.1.1.2. Děložní serózní papilární karcinom .....                                                                          | 22        |
| 3.3.1.2. Vliv exprese na prognózu bez léčby .....                                                                            | 23        |
| 3.3.1.2.1. Nespecifikované endometriální karcinomy.....                                                                      | 23        |
| 3.3.1.2.2. Endometrioidní karcinom endometria .....                                                                          | 24        |
| 3.3.1.2.3. Děložní serózní papilární karcinom .....                                                                          | 24        |
| 3.3.1.3. Vliv exprese na výsledek léčby.....                                                                                 | 25        |
| 3.3.2. Karcinomy děložního hrdla .....                                                                                       | 26        |

|            |                                                                             |           |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.3.2.1.   | Pouhý popis exprese.....                                                    | 26        |
| 3.3.2.1.1. | Nespecifikované karcinomy děložního hrdla.....                              | 26        |
| 3.3.2.1.2. | Sarkomatoidní skvamózní buněčný karcinom děložního hrdla .....              | 28        |
| 3.3.2.2.   | Vliv exprese na prognózu bez léčby.....                                     | 28        |
| 3.3.2.2.1. | Nespecifikované karcinomy děložního hrdla.....                              | 28        |
| 3.3.2.2.2. | Dlaždicobuněčný cervikální karcinom.....                                    | 29        |
| 3.3.2.2.3. | Sklovitěbuněčný cervikální karcinom.....                                    | 29        |
| 3.3.2.3.   | Vliv exprese na výsledek léčby.....                                         | 29        |
| 3.3.3.     | Sarkomy dělohy .....                                                        | 30        |
| 3.3.3.1.   | Pouhý popis exprese.....                                                    | 30        |
| 3.3.3.1.1. | Různé nebo nerozlišené sarkomy .....                                        | 30        |
| 3.3.3.2.   | Vliv exprese na prognózu bez léčby .....                                    | 31        |
| 3.3.3.3.   | Vliv exprese na výsledek léčby.....                                         | 31        |
| 3.3.4.     | Karcinosarkomy dělohy .....                                                 | 31        |
| 3.3.4.1.   | Pouhý popis exprese.....                                                    | 31        |
| 3.3.4.2.   | Vliv exprese na prognózu bez léčby .....                                    | 32        |
| 3.3.4.3.   | Vliv exprese na výsledek léčby.....                                         | 33        |
| <b>4.</b>  | <b>Diskuse.....</b>                                                         | <b>34</b> |
| 4.1.       | Porovnání metod v zahraniční literatuře.....                                | 34        |
| 4.2.       | Normální tkáň a nenádorové choroby .....                                    | 34        |
| 4.3.       | Nádory dělohy.....                                                          | 35        |
| 4.3.1.     | Přehled počtů prací v jednotlivých podkapitolách zahraniční literatury..... | 35        |
| 4.3.2.     | Vliv exprese HER2 na prognózu bez léčby léčby .....                         | 36        |
| 4.3.2.1.   | Karcinomy endometria .....                                                  | 37        |
| 4.3.2.2.   | Karcinomy čípku.....                                                        | 37        |
| 4.3.2.3.   | Sarkomy dělohy .....                                                        | 38        |
| 4.3.2.4.   | Karcinosarkomy dělohy .....                                                 | 38        |
| 4.3.3.     | Vliv exprese HER2 na výsledek léčby .....                                   | 39        |
| 4.3.3.1.   | Antiestrogeny .....                                                         | 39        |
| 4.3.3.2.   | Trastuzumab .....                                                           | 39        |
| 4.3.3.3.   | Jiná léčba.....                                                             | 40        |
| <b>5.</b>  | <b>Závěr.....</b>                                                           | <b>41</b> |
| <b>6.</b>  | <b>Seznam zkratk.....</b>                                                   | <b>42</b> |
| <b>7.</b>  | <b>Seznam literatury.....</b>                                               | <b>44</b> |

## SOUHRN

V této bakalářské práci jsme se zabývali nádorovým markerem HER2/neu a jeho vztahu k nádorům dělohy. Informace a podklady k této práci jsme získali z české a zahraniční literatury. Zaměřili jsme se na nádory s nadměrnou expresí tohoto receptoru, a také na možnost jejich léčby trastuzumabem.

Nejdříve jsme charakterizovali jeho strukturu a funkci v normální tkáni. V kapitole „Česká časopisová a internetová literatura“ se dozvídáme, že receptor HER2/neu je transmembránový glykoprotein, je produktem genu c-erbB2 a patří do rodiny receptorů epidermálních růstových faktorů (EGFR). Běžné lidské buňky exprimují pouze malé množství HER2 proteinu na cytoplazmatické membráně, na rozdíl od patologických buněk. Rovněž je známo, že všechny receptory rodiny HER (EGFR) jsou za fyziologického stavu důležité pro plynulou obnovu epiteliálních tkání. V nádorové tkáni vykazuje receptor HER-2/neu abnormální nebo zvýšenou expresi, což svědčí pro jeho zapojení v tumorigenezi. Detailní studium transdukční dráhy vede též k poznání možných cílů zásahu při protinádorové terapii. HER2/neu je receptor, který po vazbě růstového faktoru předává buňce signál k jejímu dělení. Mimoto jeho nadměrná exprese v mnoha typech nádorů koreluje se stadiem a progresí nemoci, se šancí na přežití a odpovědí na léčbu. Nádory, ve kterých k amplifikaci dojde, mají špatnou prognózu. Z toho vyplývá, že inhibice HER2/neu v jeho účinku nebo tvorbě by mohla progresi tumoru zabránit.

Jako prostředek inhibice byla připravena humanizovaná monoklonální protilátka, která se váže na extracelulární doménu receptoru HER2/neu a blokuje tak přístup epidermálního růstového faktoru. Tato monoklonální protilátka dostala název transtuzumab a vyrábí se pod komerčním názvem Herceptin. Trastuzumab byl schválen v řadě zemí zatím jen pro léčbu primárně metastatického karcinomu prsu.

V zahraničních studiích však nalézáme články, jejichž autoři se zabývali účinky trastuzumabu například u pacientek s progresivním nebo recidivujícím endometriálním karcinomem, který vykazoval nadměrnou expresi receptoru HER2/neu, což se zjistilo imunohistochemickou metodou. U těchto pacientek s progresivní nebo s recidivující chorobou s tvorbou metastáz bylo docíleno zmírnění symptomů a prodloužení života bez závažných toxických účinků tohoto léčivého přípravku.

# 1. Úvod

Úkolem této bakalářské práce bylo obecně charakterizovat tumorový marker HER2/neu a dát ho do souvislosti s děložními nádory. Práce byla vytvořena také proto, aby uceleným popisem posbíraných argumentů přispěla například k používání trastuzumabu pro léčbu karcinomů dělohy. Lépe řečeno, mohla by napomoci myšlence zavést tuto léčbu i v našich nemocnicích. Proto jsme se zabývali vyšetřováním HER2/neu v těchto nádorech. Dostupné informace jsme získali z české, převážně však ze zahraniční literatury.

## 2. Teoretická část

### 2.1. Česká časopisová a internetová literatura

#### 2.1.1. HER-2/neu receptor - struktura a funkce v normální tkáni

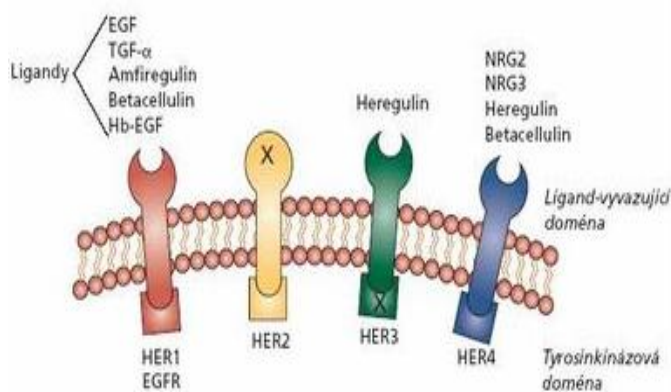
Receptor HER-2/neu je transmembránový glykoprotein a je produktem genu c-erbB2. Má svoji vnitřní tyrozinkinázovou aktivitu a jeho molekulární hmotnost je 185 kDa. Tento receptor patří do rodiny dnes již dobře poznaných HER (human epidermal receptor) neboli erbB receptorů, která se skládá ze čtyř homologních, vzájemně spolupracujících členů označovaných HER-1, HER-2, HER-3 a HER-4. Transmembránové HER receptory přenášejí extracelulární podněty do jádra buňky a po navázání ligandu na extracelulární doménu, dimerizaci receptoru a aktivaci tyrozinkinázy se spustí složitá signální kaskáda.

Receptor HER-2/neu má tři části:

extracelulární, transmembrální a intracelulární. Extracelulární doména se skládá z 632 aminokyselin a jako pro jedinou z celé rodiny HER receptoru pro ni zatím nebyl identifikován žádný známý ligand. Hydrofobní transmembrální část je

složena z 22 aminokyselin a zajišťuje ukotvení receptoru k buněčné membráně. Intracelulární doména, tvořená 580 aminokyselinami, obsahuje místo odpovědné za tyrozinkinázovou aktivitu a další regulační funkce. Za fyziologického stavu jsou receptory HER rodiny důležité pro plynulou obnovu epiteliálních tkání (Cinek a Filip 2007).

Každý HER receptor je v zásadě inaktivní monomér, který se stává dimérem v odpovědi na navázání ligandu, nejčastěji růstového faktoru. Tento proces se nazývá homodimerizace, jde-li o receptor toho samého typu (např. dimér HER-1/HER-1), daleko častěji však dochází k heterodimerizaci, naváže-li se jiný receptor HER rodiny (např. dimér HER-1/HER-2). Teprve tento dimerizační proces má za následek aktivaci receptoru a autofosforylaci tyrozinkinázy, která poté spouští kaskádu metabolických pochodů tvořících komplexní signální dráhu přenášející extracelulární podnět do jádra buňky. Zde přenesený signál modifikuje genovou kontrolu a proteinovou transkripci, což má ve svém důsledku



účinky na klíčové buněčné regulační procesy, jako jsou diferenciace, adheze, růst, migrace a apoptóza. Porušená, dysregulovaná receptorová funkce a změny v několika nebo ve všech signálních kaskádách mohou vyústit v buněčnou transformaci a maligní zvrát.

V intracelulárním přenosu signálů, vycházejících z HER receptoru a směřujících do jádra buňky, jsou nejčastěji zapojeny dráha Ras/MAPK a dráha PI3-K/Akt. Navíc receptor HER-2/neu hraje klíčovou roli při tvorbě heterodimerů, protože jako dimerický partner je preferován a v některých lidských tkáních se dokonce jedná o nejčastěji se vyskytující heterodimery. Diméry obsahující HER-2/neu také dokážou produkovat silnější intracelulární signály než ty, které vznikají z jiných komplexů (Cinek a Filip 2007). Proto možná nemusí existovat ligand pro HER-2/neu a stačí, když je aktivován HER1 svým ligandem a spojí se s HER2 – který tak nepotřebuje ligand, ale zprostředkuje další přenos signálu (lépe nebo jinak než dimér HER1/HER2).

### **2.1.2. Receptor HER-2/neu v nádorech**

Receptor HER-2/neu vykazuje abnormální nebo zvýšenou expresi v mnoha typech nádoru, což svědčí pro jeho zapojení v tumorigenezi. Mimo to jeho nadměrná exprese koreluje se stadiem a progresí nemoci, přežitím a odpovědí na léčbu. Informace o heterodimérách a jejich aktivaci jsou v normálních buňkách a tkáních pod neustálou kontrolou, ale v nádorových buňkách byla zjištěna dysregulace této sítě, kdy zvýšená exprese HER-2/neu (např. v karcinomu prsu) nebo HER-1 (např. v karcinomu plic) poskytuje buňkám růstovou výhodu. Bylo prokázáno, že nadměrná exprese HER-2/neu, pozorovaná asi u 20–30 % karcinomu prsu a vaječníku, aktivuje PI3-K/Akt cestu „přežití“, čímž upřednostňuje buněčnou proliferaci inhibicí apoptózy. Signál „přežití“ je za normálního stavu spárován s aktivací další, tzv. proliferací dráhy Ras/MAPK. Zvýšená HER-2/neu exprese v nádorech proto zvyšuje a prodlužuje signalizaci prostřednictvím obou těchto drah, PI3-K/Akt i Ras/MAPK. Ve zvýšené přítomnosti HER-2/neu signálu je tedy umožněn posun od apoptózy k proliferaci a přežití, což potvrzuje spojení HER-2/neu receptoru s maligním fenotypem.

Klíčová role členů rodiny HER ve zvyšování metastatického potenciálu spočívá také v jejich schopnosti vyvolat sekreci tkáňových membránových degradačních enzymů metaloproteáz (MMP), které modifikují tkáňovou architekturu prostřednictvím defektu v matrix a následně vedou k poruše interakcí mezibuněčných a interakcí buňka – matrix. Tyto poruchy společně se změnami integrinové a kadherinové funkce jsou často pozorovány u

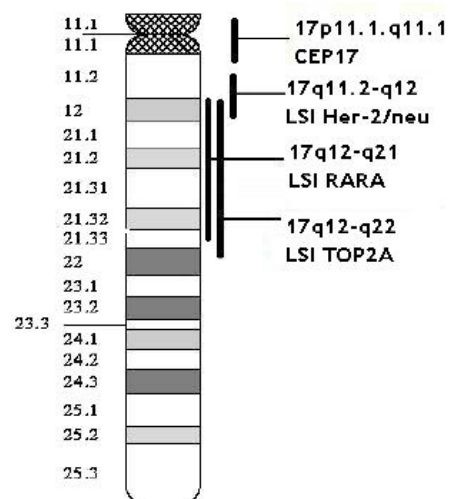
nádorových buněk s aktivovanou HER signalizací. Usnadňují komunikaci mezi nádorovými buňkami a jejich proklouznutí z kontroly v mikroprostředí. Zejména tvorba nových interakcí receptoru HER s integriny, jako např. interakce HER-2/neu s integrinem 64 a fokální adheze kináz spouští cestu PI3-K indukující vyplavení sekundárních posílů fosfoinositidu a kalcia. Tyto molekuly postupně aktivují multiproteinové komplexy, které hrají roli v reorganizaci aktinového cytoskeletu a tím v migraci nádorových buněk (Cinek a Filip 2007).

### 2.1.3. HER2/neu onkogen

V různých pracích, které zde komentujeme, jakoby se opakovaly stejné informace stejné informace. Avšak lze vytušit na první pohled drobné rozdíly. Někdy jde o zastaralost údajů nebo o neopatrnost autorů, ale promítá se do toho jejich pohled na problematiku a znalosti, které ve svých textech neuvedli. Např. HER2/neu onkogen není totéž, co HER2 regulační gen. Mohlo by jít i o strukturální změnu a schopnost přijmout ligand, nejen o amplifikaci genu.

Her2/neu onkogen (Human Epidermal Growth Factor Receptor) je identický s c-erbB-2 onkogenem. Kóduje 185 kDa transmembránový glykoprotein s tyrozinkinázovou aktivitou, který je téměř shodný s 170 kDa receptorem epidermálního růstového faktoru (EGFR). Vazbou ligandu EGF na extracelulární doménu dochází ke konformačním změnám, dimerizaci a polymeraci receptoru. Tato formace pravděpodobně reguluje jeho autofosforylaci a tyrozinkinázovou aktivitu, čímž může být aktivováno buněčné dělení. Kromě EGF váže Her-2/neu také TGF $\alpha$  (transformující růstový faktor  $\alpha$ ). Jde o účinný onkogen, který způsobuje transformaci buněk dokonce i při neúčasti EGF. Zdá se, že erbB-2 může po navázání dosud neidentifikovaného ligandu heterodimerizovat i s ostatními členy erbB (Her) rodiny a hraje hlavní roli v signální transdukcii všech členů této rodiny (Hajdúch a kol. 2002).

Běžné lidské buňky exprimují malé množství Her2 proteinu na cytoplazmatické membráně. Amplifikace a nadprůměrná exprese Her-2/neu vede ke zvýšení hladiny



Obr. 1: Schéma lokace genů Her-2/neu, TOP2A, RARA a centromery na chromozomu 17

mitogenního signálu a tím navozuje nadměrnou, na ligandu nezávislou proliferaci buněk. Nejčastěji se jedná o pacientky s karcinomem prsu, kde je Her-2/neu amplifikován až u 30% případů, dále o pacienty s nádorem plic, pankreatu, prostaty, ovarii či žaludku. Buňky se zvýšenou expresí Her-2/neu bývají obvykle málo diferencované, nemají přítomny hormonální receptory a onemocnění obvykle zasahuje též uzliny. Pacienti mívají obyčejně horší prognózu z hlediska délky období bez nemoci i na celkovou dobu přežití (Hajdúch a kol. 2002).

Početní změny genu Her-2/neu bývají často spojeny i se změnami v počtu genů kódujících topoizomerázu II $\alpha$ , neboť tento gen (TOP2A) je lokalizován na chromozomovém pruhu 17q12-q21, v těsném sousedství genu Her-2/neu (17q11.2-q12). In vivo byla u 50 % nádorů prsu s amplifikací Her-2/neu genu nalezena taktéž amplifikace TOP2A. Udávané procento výskytu koamplifikovaných případů se však v různých studiích liší.

Receptor kyseliny  $\alpha$   $\square$ retinové (RARA = Retinoic Acid Receptor Alpha) je hormonálně závislý transkripční transaktivátor, zahrnutý v regulaci buněčné diferenciaci a proliferaci. Podobně jako gen pro Her-2/neu a TOP2A je RARA lokalizován v oblasti 17q12-q21 a bývá spolu s oběma geny často koamplifikován (Hajdúch a kol. 2002).

### **2.1.3.1. Dynamika amplifikace genu c-erbB-2 v synchronních benigních, předmaligních, maligních a metastatických lézích**

Nejčastějším histologickým typem maligního nádoru prsu je duktální invazivní karcinom. A právě jen u tohoto histologického typu byla potvrzena nadměrná membránová exprese receptoru HER-2/neu spojená s amplifikací příslušného genu v jádru buňky. Podle našich současných poznatku tedy můžeme hovořit o skutečné nadměrné expresi HER-2/neu receptoru jen v případech duktálních karcinomu, což má zásadní důsledky pro indikaci biologické léčby. Vznik duktálního karcinomu z normálních buněk epitelu ductu můžeme sledovat přes duktální hyperplázii (DH), atypickou duktální hyperplázii (ADH) a duktální karcinom in situ (DCIS), což jsou morfologické jednotky, které se ale také mohou vyskytovat synchronně již spolu s invazivním karcinomem (DIC). Při další progresi onemocnění dochází k vytvoření metastáz. Toto je typická vývojová řada invazivního duktálního karcinomu. Bylo zjištěno, že amplifikace genu pro receptor HER-2/neu se může objevit de novo v každém stadiu vývoje onemocnění od ADH až k metastázám. Nejčastěji se poprvé vyskytuje v ADH nebo DCIS, ale jen méně často v primárním nebo metastatickém karcinomem. Pokud již k



amplifikaci dojde, pak se jedná o relativně stabilní genetickou změnu, jež je většinou předávána na vývojově vyšší stupně onemocnění. Jsou zdokumentovány ale i opačné případy, kdy primární nádor vykazoval vysokou expresi receptoru HER-2/neu s FISH vyšetřením potvrzenou amplifikací c-erbB-2 genu, nicméně buňky korespondující metastázy měly nižší membránovou pozitivitu receptoru a nebyla u nich prokázána amplifikace genu. Tyto případy jsou ale výjimečné (Cinek a Filip 2007).

### **2.1.3.2. Exprese receptoru HER-2/neu v prognóze a v predikci odpovědi na léčbu**

Jak prokázaly mnohé studie, pacientky s HER-2/neu pozitivními nádory mají horší prognózu než ženy s HER-2/neu negativními nádory. Prognostický dopad HER-2/neu positivity souvisí zejména s prvními 3 až 4 lety po operaci. Důvodem pro časný relaps u HER-2/neu pozitivních nádorů je přítomnost zbytkové choroby již v době operace. Bylo zjištěno, že růstové faktory vyplavené během hojení operační rány stimulovaly přednostně růst HER-2/neu pozitivních nádorů. Tyto růstové faktory mají tedy pravděpodobně stimulační účinky na diseminované mikrometastázy HER-2/neu pozitivních karcinomů, jejichž přítomnost se předpokládá zejména u pacientek s pozitivními spádovými lymfatickými uzlinami.

Nadměrná exprese receptorů HER-2/neu je prediktorem odpovědi na chemickou léčbu antracykliny. Četné velké studie potvrdily, že pacientky s pozitivními spádovými lymfatickými uzlinami měly benefit z podání doxorubicinu, ale pouze v případě HER-2/neu pozitivních nádorů. Naopak žádný benefit nebyl pozorován v případě HER-2/neu negativity. HER-2/neu pozitivita dále souvisí s rezistencí na endokrinní léčbu, a to dokonce i u pacientek s pozitivními hormonálními receptory.

Stav exprese membránového receptoru HER-2/neu předpovídá odpověď na cílenou biologickou léčbu monoklonální protilátkou trastuzumab, která je směřována proti extracelulární doméně receptoru. V současné době jsou touto protilátkou léčeny pacientky s HER-2/neu pozitivními karcinomy adjuvantně a paliativně. Vyšetření stavu receptoru HER-2/neu v membráně buněk se stalo standardní součástí diagnostiky invazivního karcinomu prsu. Zvýšená exprese tohoto receptoru má zásadní význam pro pacientky s duktálními nádory. Jako negativní prognostický faktor pacientky předurčuje k agresivnější systémové léčbě pro vyšší riziko generalizace, jako prediktivní faktor vybírá pacientky k chemické léčbě antracykliny a k individualizované cílené biologické léčbě (Cinek a Filip 2007).

Články, které je možno vyhledat v české literatuře (na internetových stránkách) v souvislosti s HER2/neu, se týkaly především karcinomů prsu. O děloze se v české literatuře nepodařilo nalézt žádné informace.

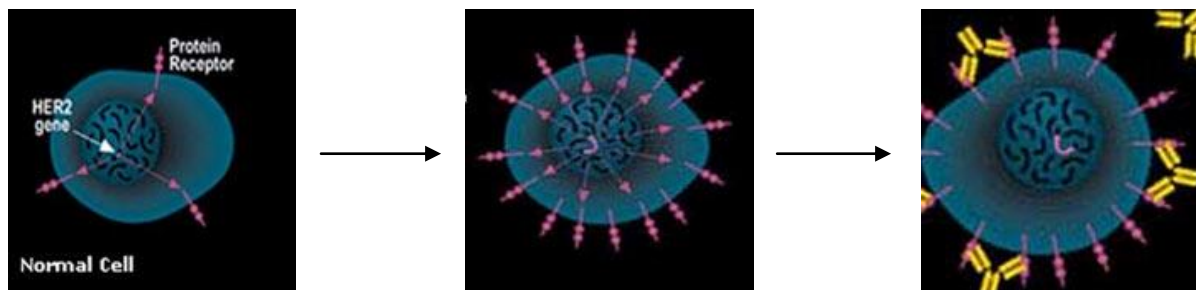
#### **2.1.4. Herceptin**

Byla vytvořena protilátka trastuzumab (Herceptin, Genentech), orientovaná proti extracelulární doméně p185<sup>Her2</sup>. Herceptin inhibuje růst buněk karcinomu prsu se zvýšenou expresí p185<sup>HER-2</sup> receptoru jak v in vitro podmínkách, tak u nádorových xenotransplantátů. Bylo prokázáno, že trastuzumab zvyšuje klinický benefit chemoterapie první linie u nemocných s metastatickým karcinomem prsu a zvýšenou expresí Her-2/neu. Jsou připravovány nové studie včetně genové terapie a vakcinace. Byly připraveny Her-2/neu monoklonální protilátky pro radionuklidové zobrazovací metody, zvláště pro detekci mikrometastáz a pro chemoradioterapii. Trastuzumab byl schválen v řadě zemí pro léčbu první linie u primárně metastatického karcinomu prsu (v České republice od 1. července 2001) a tím se vyšetřování HER-2/neu jeví jako velmi důležité pro určení prognózy a predikce léčebné odpovědi. Použití Herceptinu v klinické praxi významně přispívá k zvýšení účinnosti terapie a prodloužení života u pacientů s amplifikací Her-2/neu (Hajdúch a kol. 2004).

Trastuzumab je monoklonální protilátka. Asi u 20 % karcinomů prsu je na buňkách přítomno nadměrné množství bílkoviny HER2. Nadměrná přítomnost této bílkoviny způsobuje, že tyto nádory zpravidla rychleji rostou a dříve metastazují. Trastuzumab je protilátka proti HER2 - váže se na HER2 a tím zabraňuje jeho vlivu na nádorovou buňku, růst nádoru se zastaví, popř. nádorové buňky hynou. Předpokládá se, že Herceptin navázaný na nádorovou buňku slouží rovněž jako "maják", který buňku označuje. Označené nádorové buňky jsou pak napadány a zabíjeny vlastními imunitními buňkami (Adam a kol. 2008).

Trastuzumab je takzvaná humanizovaná monoklonální protilátka s minimálním počtem aminokyselinových sekvencí charakteristických pro protilátky zvířat, aby se proti ní nevytvářely protilátky u pacienta. Tato monoklonální protilátka je podobná protilátkám, které se přirozeně vytvářejí v lidském těle a chrání ho proti virovým a bakteriálním infekcím. Trastuzumab se váže selektivně na antigen (HER2), který je na povrchu nádorových buněk. Herceptin je předepisován lékařem k léčbě pacientek s časným karcinomem prsu, u nichž je tento přípravek používán po ukončení chemoterapie, a k léčbě pacientek s metastazujícím

karcinomem prsu - pokud nádory vytvářejí značné množství HER2. Přípravek se také užívá k léčbě pacientek, u kterých jiná léčba selhala. Dále se užívá v kombinaci s protinádorovými přípravky paclitaxel nebo docetaxel jako léčba první volby u metastazujícího karcinomu prsu (Hajdúch a kol. 2002).



### 2.1.5. Léčba jinými preparáty

Buňky se zvýšenou expresí Her-2/neu jsou citlivé na léčbu doxorubicinem i paclitaxelem nejenom v podmínkách in vitro, ale také in vivo. Zvýšená exprese Her-2/neu u pacientů koreluje s dobrou odpovědí na léčbu paclitaxelem, i když nedochází k odstranění patologických změn v buňce (Hajdúch a kol. 2002).

Mluvíme-li o citlivosti Her-2/neu amplifikovaných buněk na cytostatika, je třeba podotknout, že citlivost na inhibitory topoizomerázy II (jako je například doxorubicin) může být způsobena i současnou amplifikací TOP2A genu. V současné době probíhá intenzivní výzkum možnosti léčby karcinomu prsu aplikací protilátek proteinu p185<sup>Her2</sup>, popřípadě v kombinaci s cytostatiky. Tyto protilátky mohou inhibovat růst nádoru a transformovat buňky, které produkují vyšší hladinu proteinu p185<sup>Her2</sup> (Hajdúch a kol. 2002).

Enzymová aktivita topoizomeráz se uplatňuje zejména při organizaci terciální struktury DNA. DNA topoizomerázy II jsou v buňce nutné k zajištění replikace, transkripce, ale i segregace či kondenzace chromozomů a proto je zvýšená exprese TOP2A (TopoII $\alpha$ ) zaznamenávána v S, G2 a M fázích buněčného cyklu (Hajdúch a kol. 2002).

Lidská topoizomeráza II se vyskytuje ve dvou vysoce homologních izoformách – izoformě  $\alpha$  (170 kDa) a izoformě  $\beta$  (180 kDa). Topoizomeráza II je cílovou molekulou pro řadu cytostatik, tzv. topoII inhibitorů. Zvýšené množství topoizomerázy dané amplifikací TOP2A genu disponuje nádorové buňky k vyšší citlivosti na topoII inhibitory (například antracykliny) a toto vyšetření tak může ovlivnit výběr protinádorových léčiv u karcinomu prsu. Většina inhibitorů DNA topoizomeráz se současně váže na DNA řetězce a molekulu

DNA topoizomerázy za vzniku stabilního komplexu, čímž jsou stabilizovány zlomy v DNA řetězcích, je zabráněno opětovné ligaci rozštěpených DNA vláken a indukují se DNA reparační mechanismy nebo apoptóza. Mezi topoII inhibitory patří například epipodofylotoxiny (vepesid a tenipozid), antracykliny (daunorubicin, doxorubicin, idarubicin) dále mitoxantron a amsakrin aj. (Hajdúch a kol.2002).

Bylo již prokázáno, že případy nemocných s duktálním karcinomem prsu (DISC), pozitivními estrogenovými receptory a vysokou proliferační aktivitou jsou asociovány se změnami v RARA. Jelikož je léčba retinoidy poměrně málo toxická, je důležité ověřit, zda existují prediktivní znaky umožňující identifikovat nemocné se solidními nádory a dobrou odpovědí na terapii retinoidy. Lze se oprávněně domnívat, že právě pacientky s amplifikací Her-2/neu a koamplifikací RARA budou citlivější k retinoidům, které by se tak mohly vedle antracyklinů a Herceptinu stát další terapeutickou alternativou u této prognosticky nepříznivé skupiny nemocných (Hajdúch a kol. 2002).

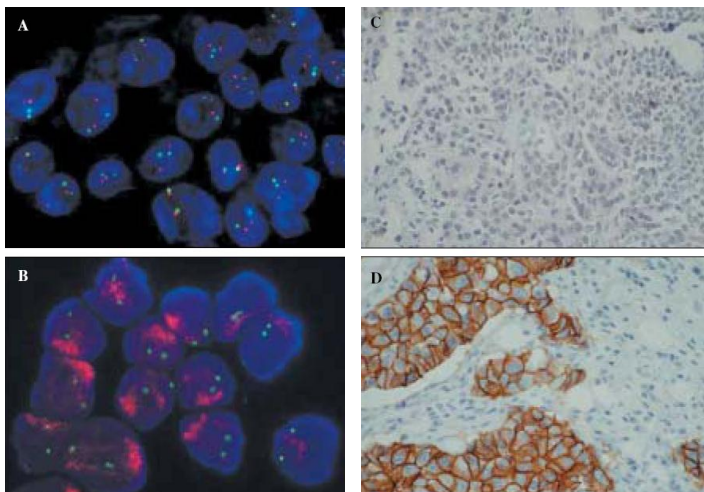
### **2.1.6. Možnosti stanovení receptoru HER-2/neu a genu c-erbB-2 v invazivním karcinomu prsu**

Přesné určení stavu tyrozinkinázového receptoru HER-2/neu v buňkách invazivního karcinomu prsu je nezbytné pro stanovení prognózy pacientky a dále určuje volbu chemické, hormonální a biologické léčby. Protože je zvýšená exprese receptoru HER-2/neu téměř vždy důsledkem amplifikace příslušného protoonkogenu c-erbB-2, můžeme dnes standardními vyšetřovacími metodami identifikovat buď počet kopií genu c-erbB-2 v jádru buňky, nebo množství jeho produktu – receptoru HER-2/neu – v buněčné membráně, neboli stanovit membránovou pozitivitu. Počet kopií genu se vyšetřuje metodami fluorescenční in situ hybridizace (FISH) nebo chromogenní in situ hybridizace (CISH). Jde o metody náročné na přístrojové vybavení, zkušený personál, čas a jsou poměrně drahé. Stanovení exprese receptoru v buněčné membráně se provádí imunohistochemicky (IHC). Je to metoda široce dostupná, relativně jednoduchá, spolehlivá a levná. Oba postupy mají své výhody i nevýhody.

Imunohistochemie obecně využívá afinitu antigenu a specifické protilátky a detekuje jejich vzájemnou vazbu. Při imunohistochemickém vyšetření invazivních karcinomu prsu se stanovuje stupeň HER-2/neu proteinové exprese v parafinových tkáňových vzorcích použitím protilátek, jež se vážou na HER-2/neu exprimovaný na buněčných membránách. Toto vyšetření je semikvantitativní a výsledek se udává jako odstupňované skóre od 0 do 3+.

V současné době je v ČR nejčastěji používána pro hodnocení exprese HER-2/neu metodika DakoCytomation. Skóre 0 a 1+ znamená negativitu, skóre 3+ pozitivitu a skóre 2+ nejistotu.

Fluorescenční in situ hybridizace zahrnuje hodnocení DNA v metafázických nebo interfázických buňkách za použití značených DNA sond a počítání mikroskopických signálů (fluorescenčně označených genů). Použití různých fotoreaktivních barviv umožňuje obarvit různé zkoumané chromozomální sekvence a současnou analýzu mnohočetných sekvencí. FISH může být použita k detekci mnoha různých typu rozmanitých chromozomálních a genových abnormalit, dále pak abnormalit počtu, translokací, delecí a přesmyku. Vzhledem ke známému faktu, že nadměrná exprese receptoru HER-2/neu v karcinomech prsu je v naprosté většině případů výsledkem amplifikace příslušného genu, využívají se FISH metody stanovení kopií genu většinou k potvrzení imunohistochemické pozitivivity 3+ nebo k potvrzení či vyvrácení pozitivivity při skóre 2+ (Cinek a Filip 2007).



Vyšetření statusu genu Her-2/neu technikou IHC a FISH:

- A) Normální stav se dvěma kopiemi genu pro ERBB2 (FISH s použitím červeně značené sondy pro ERBB2 a zeleně fluoreskující sondy pro centromeru 17. chromosomu)
- B) Amplifikace genu ERBB2
- C) Negativní IHC HercepTestem
- D) Vysoce pozitivní IHC (3+)

Podle posledních doporučení ASCO (American Society of Clinical Oncology) by měla být nadprodukce ERBB2 receptorů testována u všech pacientek s primárním karcinomem prsu, nebo v době relapsu onemocnění (Hajdúch a kol. 2004)

### 2.1.6.1. Sérový HER-2 - biologie, detekce, klinický význam

Extracelulární doména receptoru HER-2/neu prochází proteolytickým štěpením metaloproteázami a je odlučována do krve jako cirkulující antigen. Extracelulární doména receptoru HER-2/neu je glykoprotein o hmotnosti 97–115 kD a je také někdy označován jako p105, ale všeobecně je znám jako „sérový HER-2/neu“. Sérový HER-2/neu je tedy cirkulující onkoprotein a může být detekován v séru zdravých lidí, stejně jako u pacientů s různými solidními nádory. Stanovení hladin sérového HER-2/neu poskytuje prognostické a prediktivní informace pro kliniku a může být v případě karcinomu prsu využito pro monitorování pacientek s metastatickým onemocněním. Vyšetření sérového HER-2/neu poskytuje také doplňkové informace tam, kde není možné opakovat bioptické vyšetření tkáně v průběhu nádorové choroby (Cinek a Filip 2007).

### 2.1.6.2. Biočipové technologie

Pojmem microarrays (čip) jsou v dnešní době označovány různé druhy biologických technologií. V zásadě se jedná o simultánní porovnávání biologických objektů (molekuly, tkáně) na základě jejich imobilizace na jediný podklad do oblastí (spotů), které jsou pravidelně uspořádané do řádků a sloupců. Podkladem se může stát například sklo, gel, nebo parafin. V dnešní době je technika microarrays jednou z nejperspektivnějších metod využívaných pro analýzu genomu. Svou schopností studia tisíců genů v rámci jediného experimentu umožňuje efektivní zjišťování přítomnosti jak genetických aberací, tak i změn v genové expresi nebo změn na úrovni proteinů. Tím se stává významným prostředkem v diagnostice, epidemiologii či třídění nádorových onemocnění (Budínská a kol. 2006).

Na základě předmětu zkoumání se dají microarrays zjednodušeně rozdělit na:

- 1) DNA microarrays - sledují se změny v struktuře nebo expresi genů.
- CGH microarrays - pomocí této technologie se odhalují změny v počtu kopií genů nebo chromozomů (tzv. copy number changes), tedy se analyzuje přímo DNA. Základní technikou je komparativní genomová hybridizace (CGH) - metoda je založena na kvantitativní dvoubarevné fluorescenční in situ hybridizaci.
  - Expresní microarrays - sleduje se úroveň exprese jednotlivých genů na úrovni mRNA.

Na základě typu sondy naspotované na microarray sklíčku :

- cDNA arrays - obsahují sondy dlouhé 500-5000 bazí, které jsou imobilizovány na pevný podklad (sklíčko) pomocí spotovacího robota.
- oligonukleotidové arrays - obsahují oligonukleotidové nebo PNA (peptid nucleotid acid) sondy, které jsou syntetizovány in-situ, nebo konvenčně s následnou imobilizací. Nejznámější jsou GeneChip arrays (výrobce: Affymetrix Inc., GeneChip).

Na základě počtu snímaných kanálů :

- jednokanálové (single-channel) microarrays - do této kategorie patří převážně oligonukleotidové arraye (např. GeneChip arrays, ale také arrays vyráběné jinými firmami - Agilent). Tyto microarrays dávají odhady absolutních hodnot genové exprese a proto pro porovnání dvou vzorků je zapotřebí dvou microarray sklíček. Jednokanálové mohou být i cDNA arrays.
- dvoukanálové (two-channel) microarrays - již z názvu je patrné, že se jedná o arrays na které se dají hybridizovat dva vzorky (obvykle testovaný a referenční). Obvykle jsou to cDNA arrays, ale sondy mohou být i oligonukleotidy, nebo malé PCR produkty korespondující s mRNA.

2) Proteinové microarrays - zde se sledují změny na úrovni proteinů. Analýza proteinových microarrays je značně odlišná technologií i následnou analýzou.

3) Tissue micorarrays (tkáňové microarrays) - umožňují simultánní histologickou analýzu vzorků nádorů.

4) Transfection microarrays (cell-based microarays) - čipy pro analýzu funkce genů v buňkách. Na podkladu jsou imobilizovány buňky, které jsou transfekovány plazmidovou DNA nebo siRNA (small interfering RNA - dvouřetězcová molekula RNA o délce 20-25 nukleotidů).

5) Chemical Compound microarrays - jedná se o kolekci organických chemických sloučenin. Využívají se na hledání proteinů které se váží se specifickou chemickou sloučeninou.

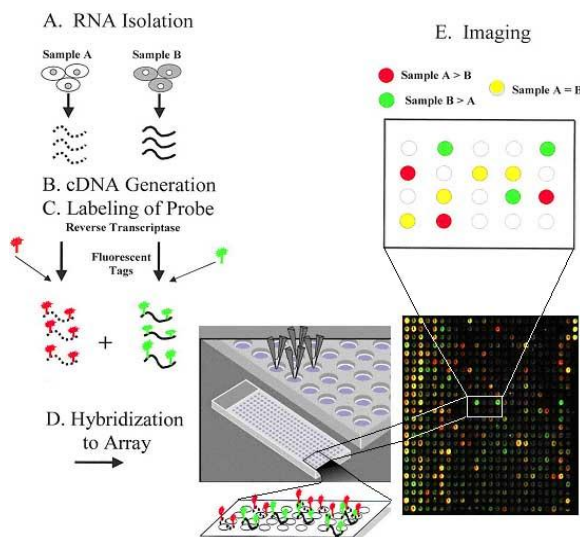
6) Antibody microarrays (protilátkové microarrays) jsou specifickou formou proteinových microarrays. Na podkladu jsou zachycené protilátky, které slouží pro detekci antigenů (Budínská a kol. 2006).

DNA čipy představují v dnešní době nový analytický nástroj v oblasti molekulární biologie a genetiky. Jejich hlavním přínosem je možnost detekovat velké množství různých DNA sekvencí v jednom pokusu. Současné běžně používané metody detekce DNA

(např. PCR) umožňují stanovení jedné nebo několika DNA sekvencí v jednom experimentu, což může činit problémy v rutinních laboratorních provozech, kde se klade důraz na rychlé získání výsledků. DNA čip je malá pevná podložka, na níž jsou imobilizovány různé DNA sekvence. Každá DNA sekvence odpovídá jednomu hledanému genu. Funkce DNA čipu je založena na hybridizaci imobilizované DNA s DNA z analyzovaného vzorku na základě komplementarity. Analyzovaná DNA musí být předem naznačena (fluorescenční barvy, biotin, radioaktivní značky). Po hybridizaci následuje získávání dat, jejich vyhodnocování a interpretace. (Vištejnová a kol. 2006).

Princip DNA microarray experimentu / Princip hybridizace cDNA expresních microarrays

Obrázek popisuje přípravu vzorků a jejich hybridizaci na cDNA microarray sklíčko. Jedná se o dvoukanalový expresní microarray experiment.



A) Nejdříve se z kontrolního a testovaného vzorku vyzoluje mRNA (v případě expresních arrays) nebo DNA (v případě CGH arrays).

B) Pomocí RT-PCR se z mRNA vytvoří cDNA (v případě expresních microarrays, nebo se z DNA namnoží DNA - u CGH microarrays). Pro RT-PCR se musí přidat především primery, ale i další reakční složky – polymeráza a trifosfáty bazí. RT-PCR (real-time PCR = kvantitativní PCR v reálném čase) je metoda umožňující přesnou kvantifikaci hledané cDNA sekvence ve vzorku. Metoda využívá fluorescenčních barviv, která se interkalují mezi báze DNA, narůstající fluorescence pak odpovídá vzrůstajícímu množství DNA ve vzorku.

Metodou lze přesně kvantifikovat množství hledané cDNA sekvence (našeho markeru) ve vzorku.

C) Tato DNA se označí fluorescenčním barvivem (odlišné u dvoukanalových arrays, obvykle zelené a červené).

D) Obě DNA v ekvivalentním množství se vylíjí na microarray sklíčko, kde proběhne hybridizace.

E) Analýza obrazu - v tomto kroku se microarray sklíčko skenuje speciálním skenerem. Dostáváme obrazy pro oba kanály, po jejich překrytí dostáváme finální podobu obrázku (Budínská a kol.2006).

DNA čipy se využívají např. pro detekci tzv. SNP (single nucleotide polymorphism - bodové mutace v genech) pomocí oligonukleotidových DNA matic. Dále má využití pro typizaci nádorů. Porovnáním expresních profilů genů z různých charakterizovaných nádorových tkání s profilem nádoru konkrétního pacienta lze dobře odhadnout jeho typ a účinněji směřovat léčbu, či nasadit chemoterapeutika, na které nebude nádor odolný. Dále je využívána pro vývoj nových léčiv proti rakovině a jiným onemocněním. Zmapování genů, které jsou exprimovány v nádoru a nikoliv ve zdravé tkáni, umožňuje identifikaci příslušných regulačních faktorů a hledání látek, které jejich působení zablokují a selektivně zastaví nebo



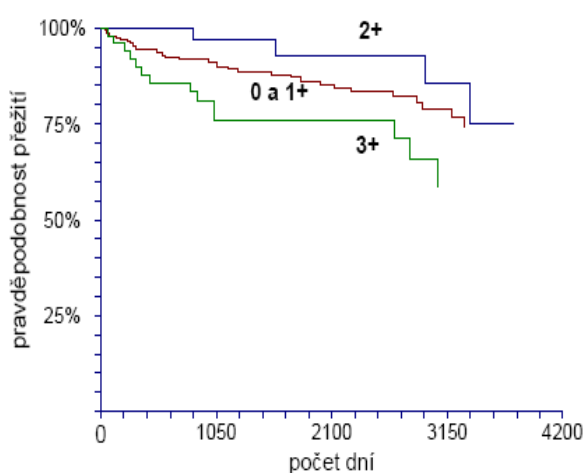
zpomalí růst nádoru. Také se uplatňuje při testování vlivu nových léčivých látek na buněčné pochody. Přispívá také k nalézání nových antigenů do očkovacích látek (Šebo 2003).

### 2.1.7. Statistické metody

Hodnocení celkového přežití pacientek může být provedeno např. pomocí počítačového statistického programu NCSS, PASS and GESS 2001 fy NCSS Kaysville, Utah, USA, testem neparametrické analýzy Kaplan--Meier Curves na hladině významnosti  $p = 0,05$ . Byly stanoveny křivky přežití v závislosti na zadaných ukazatelích. Na ose „x“ je uveden počet dní od stanovení operace, na ose „y“ je procentuální pravděpodobnost přežití.

Graf hodnotí vliv stavu receptoru HER-2/neu v karcinomech prsu na přežívání pacientek níže citovaných. Jednoznačná imunohistochemická pozitivita, označovaná jako skóre 3+, znamenala špatnou prognózu. O něco lepší prognózu měla skupina žen s nádory HER-2/neu negativními – skóre 0 a 1+. Nejlepší křivka přežití byla zaznamenána u skóre 2+. Jde o nehomogenní skupinu 38 pacientek, kde část invazivních karcinomů je HER-2/neu pozitivních a část negativních.

Křivky přežití v závislosti na stavu exprese receptoru HER-2/neu ( $p = 0,05$ )



Graf hodnotí vliv stavu receptoru HER-2/neu na přežívání pacientek v našem souboru. Jednoznačná imunohistochemická pozitivita, označovaná jako skóre 3+, znamenala špatnou prognózu. O něco lepší prognózu měla skupina žen s nádory HER-2/neu negativními – skóre 0 a 1+. Nejlepší křivka přežití byla zaznamenána u skóre 2+. Jde o nehomogenní skupinu 38 pacientek, kde část invazivních karcinomu je HER-2/neu pozitivních a část negativních.

Nadměrná exprese receptoru HER-2/neu v membráně nádorových buněk je negativním prognostickým faktorem a jako prediktivní faktor předurčuje pacientky s těmito nádory k systémové chemické léčbě na bázi antracyklinu a k individualizované cílené biologické léčbě (Hajdúch a kol. 2004).

### **2.1.8. Nádorová patologie dělohy**

Nádory dělohy mohou postihnout buď děložní tělo nebo děložní hrdlo. Nádory děložního těla jsou nejčastějšími nádory ženských reprodukčních orgánů, tvoří přes 40 % všech gynekologických zhoubných nádorů. Nejčastějším příznakem nádorového onemocnění těla děložního je abnormální (postmenopauzální) krvácení různé intenzity (Chovanec 2006).

V průběhu života ženy prodělává epitelový povrch děložního hrdla řadu změn, na jejichž podkladě mohou vzniknout prekancerózy a posléze i zhoubné nádory (Citterbart a kol. 2001). Přednádorová stadia ani časná stadia karcinomů nemají příznak. Děložní hrdlo je snadno přístupné při gynekologickém vyšetření, jak pohledu, tak tzv. prebioptickým metodám (např. cytologie, stěr na přítomnost onkogenních virů), díky kterým je možné včas diagnostikovat počínající prekancerózy (Rob 2006). Prekancerózy rozdělujeme do několika stádií tj. dysplázie mírná, střední, těžká (Citterbart a kol. 2001). Z nich potom vzniká nejprve karcinom in situ a z něj následně zhoubné nádory.

#### **2.1.8.1. Nádory děložního těla**

Nejčastějšími nezhoubnými nádory děložního těla jsou endometriální polyp a leiomyom (Citterbart a kol. 2001). Prekancerózy mohou vyústit až ve zhoubné nádory těla dělohy, mezi které patří karcinomy endometria a sarkomy. Karcinomy endometria jsou mnohem častější než sarkomy. Nejčastějšími typy karcinomů jsou adenokarcinomy endometria, které zauímají 98 % ze všech zhoubných nádorů děložního těla.

Další typy karcinomů těla jsou adenokarcinom s dlaždicobuněčnou složkou, karcinom z jasných buněk a serózní papilární karcinom. Incidence karcinomu endometria v České republice stoupá, mortalita je ze všech nádorů ženských reprodukčních orgánů nejnižší. Sarkomy se člení na několik typů – endometriální stromální sarkom, smíšený mezodermální sarkom (adenosarkom, karcinosarkom), méně časté jsou pak leiomyosarkomy a rabdomyosarkomy (Citterbart a kol. 2001).

Rizikovými faktory vzniku nádorů děložního těla jsou např. věk (zvýšený výskyt karcinomů je u žen po menopauze), obezita, diabetes, imunodeficitní onemocnění nebo hormonální antikoncepce (Citterbart a kol. 2001).

### **2.1.8.2. Nádory děložního hrdla**

Do skupiny nezhoubných nádorů děložního hrdla patří např. endocervikální polyp a leiomyom (Citterbart a kol. 2001). Nejčastějším zhoubným nádorem děložního hrdla je spinocelulární karcinom, který tvoří 90 % všech zhoubných nádorů děložního hrdla. Mezi zhoubné nádory hrdla dělohy dále řadíme adenokarcinomy (mucinózní adenokarcinom, endometrioidní adenokarcinom, karcinom z jasných buněk, serózní adenokarcinom). Zbývající typy zhoubných nádorů jsou spíše raritní, jedná se o adenoskvamózní karcinom, mukoepidermoidní karcinom, leiomyosarkom a embryonální rhabdomyosarkom (Citterbart a kol. 2001). Za nejvýznamnější rizikové faktory prekanceróz a zhoubných nádorů děložního hrdla se dnes považují infekce rizikovým typem humánního papilomaviru, defekty imunitního systému a kouření. (Citterbart a kol. 2001).

Kapitolu „Nádorová patologie dělohy“ jsem převzala z bakalářské práce studentky Šárky Horčíčkové, která se zabývala hormonálními receptory v nádorech dělohy. Kapitola by měla dát jednoduchý teoretický základ pro pochopení nálezů ze zahraniční literatury.

### 3. Zahraniční literatura

#### 3.1. Fyziologický výskyt HER2 v děložní sliznici

Ejskjaer a kol. (2005) zkoumali expresi čtyř EGF receptorů a dvou ligandů. Premenopauzálním ženám byly odebrány endometriální vzorky na 6+/- 1 den a 12 +/-1 den po ovulaci během jednoho a téhož menstruačního cyklu. RNA byla extrahována a analyzována pomocí PCR „v reálném čase“ a imunohistochemie byla provedena k lokalizování složek EGF systému. Lidský EGF receptor 1 (HER1) ukázal nejvyšší expresi během proliferační fáze menstruačního cyklu, HER2 a HER4 během časně a HER3 během pozdní sekreční fáze. Exprese amphiregulinu (AR) a exprese transformujícího růstového faktoru alfa (TGF alfa) je nejvyšší v proliferační fázi. Na heparin vázaný (HB)-EGF a betacellulin (BCL) neukazuje žádnou změnu. V některých vzorcích je detekovatelný epiregulin (EP). EGF je nedetekovatelný. HER1, HER2, HER3 a HER4 byly lokalizovány v epitelu a žlázách, HER3 a HER4 pouze v sekreční fázi. amphiregulin byl viděn v leukocytech a vazivových buňkách, TGF alfa a betacellulin v epitelovém lemu sliznice, epiregulin ve vazivových buňkách, zatímco HB-EGF a EGF jsou nedetekovatelné (Ejskjaer a kol. 2005).

HER-2/neu byl široce používán jako cíl pro nádorovou prevenci a léčbu, kvůli jeho expresi v mnoha nádorech. Nicméně také hraje důležitou roli v proliferaci endometria, implantaci embrya a jeho vývoji. Zde byl HER-2/neu použit v imunokontraci. Byla vyrobena genová vakcína kódující extracelulární doménu lidského HER-2/neu. Po imunizaci myši to vyvolalo humorální a buněčnou odpověď. Implantace embrya byla narušena tím, že interferovala s intravenózní a intraluminální injekcí anti-HER-2 séra nebo lymfocytů. Snížená plodnost byla vyvolána po vakcinaci, ve srovnání s kontrolními skupinami, zatímco poškození dělohy a vaječnicků nebylo pozorováno (Ni a kol. 2004).

#### 3.2. Nenádorové choroby dělohy

Byla vyhodnocena přítomnost alfa-estrogenového receptoru, progesteronového receptoru a HER-2/neu (c-erbB-2) onkoproteinu ve stěnách dělohy 10 zdravých koček a 20 subjektů s cystickou endometriální hyperplázií až hnisavým zánětem dělohy (CEH-P). Poškození byla rozdělena do stupňů podle závažnosti cystické dilatace, hyperplázie a zánětu a

byla klasifikována jako normální, mírná hyperplázie dělohy a vážná hyperplázie dělohy. Expres ER, PR a c-erbB-2 byla kvantifikována imunohistochemicky v endometriu, žláзовém epitelu, podpůrné vazivové tkáni (ve fibroblastech) a buňkách hladké svaloviny.

Expres ER měla sklon ke zvyšování se na povrchu endometria a žláзовého epitelu, a to u skupiny vážných hyperplázií ( $P > 0,05$ ) a byla statisticky signifikantně nižší u mírných případů hyperplázie, ve srovnání s normálním endometriem ( $P < 0,05$ ). Naopak expres PR u vážných i mírných případů hyperplázie má tendenci k tomu být vyšší než v normální děloze – a to jak u podpůrných vazivových buněk tak u žláзовého epitelu. Imunoreaktivita c-erbB-2 byla objevena pouze na endometriálním povrchu a žláзовém epitelu děložní stěny a větší obarvení bylo nalezeno jen v případě těžké hyperplázie.

Na závěr Misirlioglu a kol. (2006) předpokládají, že u koček může onkoprotein c-erbB-2 hrát roli v patogenezi cystické endometriální hyperplázie společně s ER a PR, a že ER nehrají žádnou roli v mechanismu hnisavého zánětu dělohy, zatímco PR hrají roli v patogenezi jak cystické endometriální hyperplázie tak i hnisavého zánětu dělohy (Misirlioglu a kol. 2006).

### 3.3. Nádory dělohy

#### 3.3.1. Karcinomy endometria

##### 3.3.1.1. Pouhý popis exprese

###### 3.3.1.1.1. Různé nebo nerozlišené endometriální karcinomy

Expres genů erbB-1/erbB-2 byla měřena aplikováním kvantitativní RT-PCR techniky u 25 děložních karcinomů, 12 normálních endometrií, jednoho karcinosarkomu a případu botryoidního sarkomu děložního krčku. Autoři prokázali nadměrnou expresi erbB-1 mRNA u 48 % (12/25) a nadměrnou expresi erbB-2 mRNA u 8 % (2/25) analyzovaných tumorů. Stupeň exprese erbB-1 a erbB-2 se zdál být významně vyšší u maligních nádorů ve srovnání s benigními nádory. Byla nalezena významná korelace mezi nadměrnou expresí erbB-1 a nádorovou diferenciací. Nadměrná expres ERB-1/ERB-2 je přímým důsledkem vyšší transkripční aktivity kódovaných genů v této podskupině lidských endometriálních karcinomů (Brys a kol. 2007).

Nadměrná exprese onkoproteinu HER2/neu byla prokázána u 7 z 37 (18,9 %) serózních karcinomů dělohy. Naopak, všechny sérózní karcinomy z jiných orgánů (vaječníky, vejcovody, primární nádory peritonea) byly HER 2/neu negativní. Nadměrná exprese HER2/neu byla výhradně přítomna u serózních karcinomů endometriálního původu (Nofech-Mozes a kol. 2008).

U pacientek s děložním serózním karcinomem (USC) byla exprese HER-2/neu vyhodnocena imunohistochemicky. Dvanáct (48 %) z 25 USC případů vykazovalo nadměrnou expresi HER-2/neu. Nadměrná exprese HER-2/neu je spojena s pokročilým stadiem USC (z hlediska chirurgického) a nižší šancí na záchranu života po operačním zákroku (Diaz-Montes a kol. 2006).

#### 3.3.1.1.2. Děložní serózní papilární karcinom

Metody imunohistochemické (IHC) a fluorescenční in situ hybridizace (FISH) byly použity k analýze a porovnání exprese proteinu HER2/neu a ke zjištění amplifikace tohoto genu. Mírná až silná exprese proteinu HER2/neu byla zaznamenána u 16 (62 %) z 26 vzorků zhodnocených na děložní serózní papilární karcinom (USPC), z nichž 7 (27 %) vzorků vykazovalo mírné barvení (2+) a 9 (35 %) vykazovalo silné barvení (3+) na protein HER2/neu.

Amplifikace genu ERBB2 zjištěná metodou FISH byla pozorována u 11 z 26 (42 %) případů. Zvýšená exprese proteinu a genová amplifikace vykazovala vzájemnou korelaci ve 100 % (9 z 9) u 3+ pozitivních tumorů 2 ze 7 (29 %) u 2+ pozitivních tumorů. Heterogenita byla zaznamenána u 3 případů s amplifikací genu HER2/neu u stejných vzorků - s ložisky amplifikovaných tumorových buněk (míněno – s amplifikací HER2/neu) mezi neamplifikovanými tumorovými buňkami.

Žádný z 10 USPC případů hodnocených imunohistochemicky jako skóre 0 nebo 1+ nebyl pozitivní na amplifikaci ERBB2, což se zjistilo metodou FISH. Autoři v tomto abstraktu uvádějí, že amplifikace onkogenu HER2 je u USPC běžným nálezem. Analýzy metodou FISH by měly být používány pro potvrzení genové amplifikace u děložního serózního papilárního karcinomu vykazující 2+ expresi HER2/neu (Santin a kol. 2005).

Děložní serózní papilární karcinom (USPC) je vysoce agresivní varianta endometriální rakoviny a histologicky je podobný rakovině vaječníku vysokého stupně. Transmembránový

receptor HER2/neu, který je kódovaný genem c-erbb2, je při imunohistochemickém vyšetření nadměrně exprimován, podobně jako u 25 % zhoubných nádorů vaječníku.

Deset po sobě jdoucích USPC vzorků bylo hodnoceno imunohistochemicky na intenzitu exprese HER2/neu. A navíc, tři USPC buněčné linie byly analyzovány na expresi HER2/neu průtokovou cytometrií a také na citlivost k Heceptinu, zjišťovanou jednak pomocí na komplementu závislé cytotoxicity, jednak pomocí na protilátce závislé buněčné cytotoxicity (ADCC) a jednak pomocí na inhibici buněčné proliferace.

Osm z 10 (80 %) USPC karcinomů hodnocených imunohistochemicky na intenzitu exprese HER2/neu se barvilo na HER2/neu silně (2+, 3+). U čerstvých a stabilizovaných buněčných linií vykultivovaných z primárního USPC bylo zjištěno, průtokovou cytometrií, že exprimují významně více receptorů HER2/neu (průměrně 10 krát více), v porovnání s HER2/neu pozitivitou u primárních nebo stabilních rakovinných buněčných linií prsu a vaječníku (Santin a kol. 2005).

Černošské pacientky inklinují k tomu, že onemocní v mladším věku ( $P = 0,02$ ), než je tomu u bělošských pacientek (trend  $P = 0,02$ ). Sedm z 10 černošských pacientek (70 %) vykazovalo silnou (3+) expresi v porovnání s výskytem silné exprese u 4 ze 17 bělošských pacientek (24 %,  $P = 0,04$ ). Spojitost silné exprese HER2/neu a rasy v souvislosti s věkem pacientek byla kontrolována stratifikací ( $P = 0,05$ ) (Santin a kol. 2005).

### **3.3.1.2. Vliv exprese na prognózu bez léčby**

#### **3.3.1.2.1. Nespecifikované endometriální karcinomy**

Pacientky s pozitivním PW (= peritoneální výplach – pravděpodobně přítomnost nádorových buněk) a zároveň s pozitivitou nádoru na HER2 u endometriálního karcinomu dělohy vykazovaly celkově kratší dobu přežití ve srovnání s chováním HER2 negativních nádorů ( $p = 0,004$ ).

Nadměrná exprese HER2 také ovlivňovala výsledek přežití pacientek ve skupině s negativitou PgR ( $p = 0,004$ ). Při mnohorozměrné analýze se ukázalo, že nadměrná exprese PgR a HER2 jsou nezávislé prognostické faktory. Autoři na základě těchto zjištění uznávají, že kombinovaná analýza těchto biopatologických markerů by mohla poskytnout užitečné informace pro výběr pacientek, které by se zapsaly do budoucích nově modifikovaných terapeutických programů (Benevolo a kol. 2007).

### 3.3.1.2.2. Endometrioidní karcinom endometria

Systém epidermálního růstového faktoru (EGF) je exprimován u premenopauzálních žen ve zdravém endometriu. Autoři popsali expresi 4 receptorů, HER1, HER2, HER3, HER4 a šesti ligandů – amfíregulin, transformující růstový faktor alfa (TGF-alfa), epidermálnímu růstovému faktoru podobný (EGF like) heparin vázající růstový faktor (HB-EGF), betacelulin, epiregulin a EGF u rakoviny endometrioidního karcinomu endometria. Extrahovaná RNA byla analyzována metodou real-time PCR, receptory a ligandy byly lokalizovány imunohistochemicky. Tři receptory (HER1, HER2 a HER4) a dva detekovatelné ligandy (TGF-alfa a HB-EGF) mají statisticky významně vyšší expresi u rakoviny endometria, než u zdravého postmenopauzálního endometria. Rakovinná tkáň vykazovala významně nižší expresi HER1 a HER3 a naopak vyšší expresi HER4, amfíregulinu, TGF-alfa a HB-EGF ve srovnání s premenopauzálním endometriem. U HER2 nebyl pozorován žádný rozdíl v jeho expresi. Receptory jsou imunohistochemicky lokalizovány v epitelu a žlázách, zatímco ligandy se nalézají v podpůrné vazivové tkáni (amfíregulin), v podpůrné vazivové tkáni a epitelu (TGF-alfa, epiregulin), v epitelu (betacelulin) nebo nejsou detekovatelné (HB-EGF, EGF). Charakter exprese u endometrioidního karcinomu endometria se liší od charakteru u pre- a postmenopauzálního endometria. Nejpozoruhodnějším poznatkem je zvýšená hladina HER4, receptoru, která koreluje s příznivou prognózou u jiných typů rakoviny (Ejskjaer a kol. 2007).

U pacientek s endometrioidním adenokarcinomem dělohy byla HER2/neu, estrogenová a progesteronová receptorová exprese zachycena imunohistochemicky. Nižší body mass index ( $BMI = \text{tělesná váha [kg]} / \text{tělesná výška}^2 \text{ [m]}$ ), používá se pro klasifikaci podváhy, nadváhy či různé stupně obezity) byl spojen s pokročilým stadiem nádoru ( $p = 0,04$ ) a expresí HER2/neu. Černošská rasa, vysoký stupeň exprese HER2/neu, pokročilé stadium a nedostatek exprese ER a PR byly spojeny se sníženou šancí na přežití (Gates a kol. 2006).

### 3.3.1.2.3. Děložní serózní papilární karcinom

Časnější úmrtí na děložní serózní papilární rakovinu endometria byla pozorována u případů se silnou expresí HER2/neu ( $P = 0,002$ ), u černošských pacientek ( $P = 0,04$ ) a pacientek s věkem nižším nebo rovným 65 let ( $P = 0,04$ ). Nicméně, multivariantní Coxova regrese ukázala že krátká doba přežití byla významně spojena se silnou expresí HER2/neu ( $P = 0,02$ ), ale ne s věkem ( $P = 0,07$ ) nebo rasou ( $P = 0,35$ ), což naznačuje, že exprese HER2/neu



vysvětlila z velké části rasovou nesterorodost týkající se přežití u této populace. Nadměrná exprese HER2/neu u děložního serózního papilárního karcinomu endometria je nezávislá, proměnlivá a je spojená se špatným klinickým výsledkem, vyskytuje se častěji u černošských žen a může přispívat k rasové nerovnosti týkající se doby přežití. Expresce HER2/neu může ovlivňovat klinickou léčbu pacientek s děložním serózním papilárním karcinomem endometria a může rovněž podmiňovat realizaci nové léčebné strategie (Santin a kol. 2005).

Fluorescenční in situ hybridizace a imunohistochemická barvení byla provedena u 72 vzorků fixovaných formalínem a zalitých do parafínu. Kombinace hybridizačních sond pro HER-2/neu a centroméru 17 byla aplikována na izolovaná buněčná jádra z tumoru. Minimálně 200 jader bylo hodnoceno pro každý vzorek, užitím standardního signálního vypočítávacího kritéria. Vzorek byl považován za amplifikovaný, když měl 5 % nebo více amplifikovaných jader.

Amplifikace genu HER-2/neu (= DNA hybridizační technikou) a proteinová nadměrná exprese byly imunohistochemicky detekovány u 15 ze 72 (21 %) a u 12 z 72 (17 %) vzorků. V rámci toho byly dva případy nadměrné exprese HER-2 normální kopie DNA bez amplifikace dotyčného genu pro HER-2 a 5 případů amplifikace genu HER-2 bez nadměrné exprese proteinu HER-2. Amplifikace i nadměrná exprese byly spojeny s vyšším histologickým stupněm nádorů (grading). Amplifikace genu pro HER-2 byla spojena s podtypy ze světlých buněk a se serózními podtypy ( $p = 0,002$ ) a nadměrná exprese proteinu HER-2 byla spojena s pouze podtypem ze světlých buněk ( $p = 0,006$ ).

Použitím modelu proporciálního rizika přežití, bylo zjištěno, že amplifikace u děložního serózního papilárního karcinomu má významnou negativní předpovědní hodnotu – společně s klinickým stavem, histologickým stupněm a buněčným typem ( $p = 0,002$ ). HER 2/neu genová amplifikace, která byla detekována fluorescenční in situ hybridizací, má v archivních materiálech významnou prognostickou hodnotu (Rolitsky a kol. 1999).

### **3.3.1.3. Vliv exprese na výsledek léčby**

Je důležité, že ačkoliv tyto buněčné linie USPC byly rezistentní k chemoterapii in vivo a k cytotoxicitě NK buněk (přirození zabíječi) a ke komplementem zprostředkované cytotoxicitě in vitro, tak u ADCC (na protilátce závislé buněčné cytotoxicitě) byla nalezena vysoká senzitivita k Herceptinu. Buněčná proliferace USPC byla také inhibována Herceptinem (Santin a kol. 2002).

V jiném článku týkajícího se USPC bylo uvedeno, že byly nedávno identifikovány různé důležité molekulárně biologické markery, zahrnující p53, HER2/neu a mohly by být vhodné pro molekulárně cílenou terapii (Schwartz 2006).

Účelem bylo studovat účinky trastuzumabu u pacientek s progresivním nebo recidivujícím endometriálním karcinomem vykazujícím imunohistochemicky nadměrnou expresi receptoru HER2/neu. Průběh nemoci v případě endometriálního karcinomu byl zkoumán u dvou pacientek, které vyhovovaly kritériím studie, obě měly amplifikaci genu *c-erbB2*, která byla zjištěna metodou fluorescenční in situ hybridizací a byly léčeny trastuzumabem, který následoval po léčbě ozařováním a nebo pomocí jiné záchranné terapie. Klinická odpověď na trastuzumab, který působil jako samostatný činitel nebo v kombinaci s chemoterapií, byla potvrzena u obou pacientek pomocí pravidelného CT skenování a vyhodnocení séra na CA-125. U těchto pacientek s progresivním nebo s recidivující chorobou s tvorbou metastáz bylo docíleno zmírnění symptomů a prodloužení života bez závažných toxických účinků tohoto léčivého přípravku. Santin a kol. (2008) se domnívají, že trastuzumab by snad mohl být realizovatelnou možností volby jako samostatný lék nebo v kombinaci s chemoterapií u pacientek s pokročilým, recidivujícím nebo metastazujícím endometriálním karcinomem s nadměrnou expresí HER2/neu (Santin a kol. 2008).

### **3.3.2. Karcinomy děložního hrdla**

#### **3.3.2.1. Pouhý popis exprese**

##### **3.3.2.1.1. Nespecifikované karcinomy děložního hrdla**

HER-2 receptor je v normálních buňkách přísně kontrolován, jeho nadměrná exprese hraje klíčovou roli v transformaci a ve vývoji tumoru. Konstitutivní fosforylace HER-2 proteinu byla zahrnuta mezi příčiny způsobující nekontrolovatelný růst rakovinných buněk prsu a v menší míře i s adenokarcinomem dělohy, děložního hrdla, vejcovodu a endometria.

Citovaní autoři za prvé prokazují přítomnost exprese HER-2 proteinu průtokovou cytometrií u dvou nových buněčných linií cervikálního karcinomu CALO a INBL. Za druhé, používáme specifické tyrozinkinázové inhibitory, tyrfostiny, ke zkoumání regulace HER-2, stanovením krystalovou violetí. Za třetí, používáme analytickou metodu western blot ke zhodnocení stavu fosforylace HER-2. Nejvíce účinné agens – tyrfostin B42, známý jako inhibitor receptoru pro epiteliální růstový faktor, blokoval růst buněčné linie cervikálního

karcinomu in vitro v mikromolárních koncentracích během 72 hodinové aplikace. Tyrfostin B42 inhiboval HER-2 signálně regulovatelnou kinázovou dráhu, což se dalo pozorovat jako redukce u fosforylovaných forem HER-2. Časná ztráta fosforylovaných forem HER-2, po aplikaci tyrfostinu B42, byla spojena s potlačením buněčného růstu. Tudíž inhibice proliferace našich buněčných linií cervikálního karcinomu tyrfostinem B42 je úzce spojena s inhibicí protein kinázového signálu HER-2 (Soto-Cruz a kol. 2008).

Expres EGFR a HER2 byla laboratorně stanovena u primárních cervikálních nádorů a autoři nenalezli publikovaná data, která by spojovala stav receptoru s metastatickými lézemi. Expres EGFR a HER2 byla vyšetřena imunohistochemicky jak u metastáz v lymfatických uzlinách tak u primárního nádoru děložního hrdla (n=53). Expres HER2 a EGFR byla kvantitativně hodnocena s použitím kritérií HercepTestu (0, 1+,2+, 3+). Nadměrná expres EGFR (2+ nebo 3+) byla nalezena u 64 % primárních nádorů děložního hrdla a u 60 % (32/53) metastáz v lymfatických uzlinách. Byla zde značná shoda mezi primárními nádory a k nim příslušnými metastázami s ohledem na expresi EGFR. Pouze u čtyř pacientek , které měly kvantitativní hodnocení 2+ nebo 3+ u primárních nádorů, se to změnilo na 0 nebo 1+ u metastáz do lymfatických uzlin a u dvou jiných případů to bylo opačně. Žádný z primárních nádorů nebo z metastáz do lymfatických uzlin nevykazoval expresi proteinu HER2. Expres EGFR se zdála být běžná a stabilní během metastazování z nádoru děložního hrdla, což je povzbuzující pro testování radioterapii cílenou na EGFR. HER2 se ukázal být špatným potenciálním terapeutickým cílem v léčbě rakoviny děložního hrdla (Shen a kol. 2008).

V jiné práci byla data získána použitím fluorescenční in situ hybridizace, a také pomocí GeneChip (R) analýzy exprese, imunohistochemie a biochemické immunoanalýzy homogenátu (protilátky spojené s enzymy - ELISA). Do výzkumu byly zahrnuty následující tumory: nádor močového měchýře, prsu, tlustého střeva, žaludku, ledvin, jater, plic, melanom, nádory vaječníku, slinivky břišní, prostaty, dělohy, děložního krčku a ostatní. Výsledkem bylo, že všechny tumory měly vysokou úroveň amplifikace genu ErbB2, exprimovaly ErbB2, mRNA s úrovní větší než 10 násobně nad průměrem a protein s úrovní větší než 20 násobně nad průměrem (ELISA). Byla nalezena korelace mezi ErbB2, mRNA a proteinovou expresí. Na základě vyhodnocení dat u nádoru děložního krčku. Autoři předpokládají, že u žaludečních nádorů a adenokarcinomu plic se vynořily nové potenciální indikace rakovinné terapie zaměřené na ErbB2 (Kuesters a kol. 2006).

Imunohistochemické značení na p185 (c-erbB2) bylo přítomné u 24 z 82 (29 %) tumorů, ale pouze 2 tumory (2 %) s označením více než 60 % buněk, byly považovány za pozitivní - s nadměrnou expresí. Metodou FISH nebyla nalezena u těchto případů genová

amplifikace HER2/neu. Nebyla zde žádná korelace mezi výskytem imunohistochemického značení a věkem, histologickým typem nebo klinickým stadiem. Nadměrná exprese a amplifikace HER2/neu je neobvyklá u invazivního cervikálního karcinomu, a to nasvědčuje tomu, že je zde malá indikace pro použití protilátky anti-p185 (c-erbB2) při léčbě těchto pacientek (Rosty a kol. 2004).

Dřívější studie ukazovaly, že variabilní procento cervikálních tumorů má nadměrnou expresi HER2 receptoru. Výsledky naznačují, že pouze 1 z 35 případů primárních tumorů nadměrně exprimuje receptor v této úrovni, nicméně, dva ze čtyř recidivujících tumorů, které byly testovány na HER2 a vyšly s negativní diagnózou, změnily výsledek HercepTestu na skóre 2+ a 3+. Nízká frekvence exprese u případů s primárním nádorem naznačuje, že trastuzumab by mohl mít pro pacientky s primárními karcinomy děložního hrdla limitovaný význam, nicméně, zjištění změny výsledku HercepTestu na 2+ a 3+ u recidivujících tumorů a metastáz naznačuje potřebu dalšího hodnocení exprese HER2 v těchto tumorech (Chavez-Blanco a kol. 2004).

#### 3.3.2.1.2. Sarkomatoidní skvamózní buněčný karcinom děložního hrdla

Dalším zde zmíněným druhem nádoru je sarkomatoidní skvamózní buněčný karcinom (SSCC) děložního hrdla. V této studii autoři prezentovali případ 31 leté pacientky s abnormálním vaginálním krvácením. Diagnóza SCS byla potvrzena histologickým vyšetřením. Exprese p53, HER2/neu a c-kit nebyla v tumoru zvýšena (Lin a kol. 2006).

### 3.3.2.2. Vliv exprese na prognózu bez léčby

#### 3.3.2.2.1. Nespecifikované karcinomy děložního hrdla

Tento článek sleduje zda-li je exprese c-erbB-2/HER2 u děložního cervikálního karcinomu před léčbou prediktivním parametrem u pacientek s metastázou v para-aortické lymfatické uzlině (PALN) u pokročilé choroby po léčbě radioterapií (RT). Žádná z 21 sledovaných pacientek neměla vzdálené metastázy - kromě metastázy PALN. Tkáňové vzorky byly získány z cervikálních tumorů (primárních lézí) před radioterapií. Devět vzorků bylo pozitivních na c-erb-B2/HER2 a celkový poměr positivity (z 21 pacientek) byl 43 %. Poměr přežití 5 let byl 38 % pro všechny pacientky. Míra přežití 5 let u pacientek s pozitivitou c-

erbB-2/HER2 byla 28 %, což představuje směřování k horší prognóze, než u 52 % HER2 negativních pacientek ( $P = 0,10$ ). Multivariantní analýza s použitím Coxova modelu ukázala, že c-erbB-2/HER2 byl závislý prognostický faktor (Niibe a kol. 2003).

#### 3.3.2.2.2. Dlaždicobuněčný cervikální karcinom

Bylo obarveno 78 dlaždicobuněčných cervikálních karcinomů (SCC) imunohistochemicky na HER1 až HER4. Amplifikace genu HER2 byla stanovena s použitím fluorescenční in situ hybridizace (FISH). Nadměrná exprese HER1 byla nalezena u 63 % SCC, HER2 u 21,8 %, HER3 u 74,4 % a HER4 u 79,5 %. Analýzy týkající se šance na přežití odhalily spojení nadměrné exprese HER1 s příznivým výsledkem přežití ( $p=0,016$ ), zatímco nadměrná exprese HER2 a HER3 byla spojena s horší prognózou (Fuchs a kol. 2007).

#### 3.3.2.2.3. Sklovitěbuněčný cervikální karcinom

Sklovitěbuněčný cervikální karcinom děložního krčku (GCC) se skládá z velkých buněk s hojným chromatinem, který jim dává charakteristický sklovitý vzhled. Bylo identifikováno jedenáct případů s GCC. Testy pro estrogenový receptor (ER), progesteronový receptor (PR) a protein HER2/neu byly provedeny na parafinových řezech. Jeden případ (9,1 %) byl přesně diagnostikován z cervikovaginálního stěru. Mezi GCC případy, byla pozitivita ER, PR a HER2/neu u 2 (18,1 %), u 1 (9,1 %) a u 5 (45,4 %) případů. Výsledky demonstrující nadměrnou expresi HER2/neu mohou korelovat s více agresivním chováním a horším klinickým výsledkem (Kuroda a kol. 2006).

#### 3.3.2.3. Vliv exprese na výsledek léčby

Další práce byla zaměřena na pacientky s karcinomem děložního hrdla léčené ozařováním. DFS (doba měřená od radikálního chirurgického výkonu do objevení recidivy) a OS (celkové přežití měřené od data stanovení diagnózy do úmrtí na jakoukoliv, i nenádorovou příčinu). Byly pozorovány korelace mezi expresí HER2 a HER4 ( $P = 0,003$ ) a HER3 a HER4 ( $P = 0,004$ ). Snížené exprese HER2, HER4 a P-Akt byly statisticky významně svázány s

klesajícím DFS. Vzrůstající exprese EGFR a oslabená exprese HER2, HER4 a P-Akt byly statisticky významně svázány s klesajícím OS nebo vykazovaly trend k signifikanci. Když byly kontrolovány farmakologické zásahy před vlastním ozařováním, tak vícefaktorová analýza ukázala, že HER2 bylo spojeno se zlepšeným se OS ( $P = 0,05$ ). Jako závěr z této práce bylo pouze uvedeno, že vzrůstající exprese HER2 byla spojena se zlepšující se OS po kontrolování předběžných klinických faktorů (Lee a kol. 2005).

### 3.3.3. Sarkomy dělohy

#### 3.3.3.1. Pouhý popis exprese

##### 3.3.3.1.1. Různé nebo nerozlišené sarkomy

Fluorescenční in situ hybridizace (FISH) byla provedena v případech imunohistochemické exprese 2+ a 3+ (= na 2 křížky a na 3 křížky). Bylo zhodnoceno sedmdesát tumorů (52 primárních a 18 recidivujících). Všechny 10 adenosarkomů, 21 endometriálních vazivových sarkomů a 10 leiomyosarkomů bylo negativních, u primárního i recidivujícího nádoru. Bylo kvantitativně vyhodnoceno dvacet dva primárních karcinosarkomů. Epiteliální složka byla negativní nebo 1+ u 16 (73 %), 2+ nebo 3+ u pěti (22,5 %) nádorů a u jednoho případu (= 4,5 % případů) to nemohlo být vůbec zhodnoceno. Zatímco sarkomová část byla barvená negativně nebo 1+ v 21 případech (95,5 %) a 3+ v jednom případě. U dvou recidivujících karcinosarkomů, epiteliální složka vyšla u obou případů 3+ (na 3 křížky), zatímco u sarkomové části bylo skóre negativní a 1+. Amplifikace genu ERBB-2 byla stanovena metodou FISH a byla objevena u 3 ze 7 (43 %) karcinosarkomů s nadměrnou expresí na 2+ nebo 3+, což mělo za následek celkový poměr amplifikace 3/22 (14 %). Jeden ze čtyř nediferencovaných děložních sarkomů se barvil na 2+. ERBB-2 imunopozitivita (3+) a ERBB-2 amplifikace stanovené metodou FISH byly potvrzeny u recidivujících nádorů, z čehož vyplývá poměr genové amplifikace 1/4 - u nediferencovaných děložních sarkomů.

Současné výsledky vedou k úvaze, že chybí nadměrná exprese ERBB-2 u děložního leiomyosarkomu, děložního adenosarkomu a endometriálního vazivového sarkomu, zatímco ERBB-2 gen by mohl mít biologickou roli v děložním karcinosarkomu a u nediferencovaných děložních sarkomů (Amant a kol. 2004). Otázka diferencovanosti nádorů je vysvětlena v teoretické části – v kapitole „Česká časopisová a internetová literatura“.

### **3.3.3.2. Vliv exprese na prognózu bez léčby**

#### **3.3.3.2.1. Různé nebo nerozlišené sarkomy**

Čtyřicet pět novotvarů hladkého svalstva dělohy bylo hodnoceno na ploiditu DNA, na barvení oblastí jadérkových organizátorů pomocí stříbření (AgNOR), na procento jader s proliferačním jaderným antigenem (PCNA) a dále na expresi proteinu p53, HER-2/neu a MDM-2 proteinu a také na četnost mitóz a jaderný grading (= míra atypických nádorových změn buněčných jader).

Stupeň atypičnosti (grading) buněčných jader ( $P < 0,002$ ), mitotická aktivita ( $P < 0,001$ ), průměrný AgNOR ( $P < 0,001$ ), četnost nukleárního antigenu PCNA ( $P = 0,02$ ); a exprese proteinu p53 ( $P = 0,02$ ) - všechny tyto jmenované ukazatelé korelují s klinickým výsledkem. Nebyly statisticky zaznamenány žádné významné korelace mezi klinickým výsledkem a takovými kategoriemi jako expresí MDM-2, expresí HER-2/neu nebo ploiditou DNA (Layfield a kol. 2000).

### **3.3.3.3. Vliv exprese na výsledek léčby**

K této kapitole se nám nepodařilo nalézt žádný článek, který by se týkal sarkomů.

### **3.3.4. Karcinosarkomy dělohy**

#### **3.3.4.1. Pouhý popis exprese**

Karcinosarkom dělohy je vysoce agresivní tumor obsahující jak maligní epiteliální tak vřetenovité mezenchymální komponenty. Kvůli jejich řídkému výskytu a špatnému klinickému chování (prognóze) je výzkum exprese potenciálních terapeutických cílů omezen. Dva vzorky ze tkáně zalité do parafinového bločku, byly vytvořeny v zařízení pro microarray (biochipová technologie - pomocí microarray je možné monitorovat expresi genů a její ovlivnění působením farmak). Řezy byly obarveny monoklonální protilátkou proti HER-2. Jednoznačné obarvení nejméně 5 % nádorových buněk bylo považováno za pozitivní, ve 2 případech byla amplifikace HER-2 také vyšetřena fluorescenční hybridizací in situ. Co se týče epiteliální části, exprese HER-2, byla detekována u 2 (6 %) případů, zatímco tyto

exprese v mesenchymálních komponentech byly detekovány u 0 (0 %) případů. U jednoho ze dvou případů s HER-2 expresí byla metodou FISH prokázána genová amplifikace. HER-2 je špatný terapeutický cíl pro děložní karcinosarkom (Cimbaluk a kol. 2007).

U 16 případů byla imunohistochemicky vyšetřována přítomnost KIT, EGFR a HER2. U 6 případů byla také zkoumána fluorescenční in situ hybridizací (FISH) amplifikace EGFR a HER2. V epiteliální složce byla detekována nadměrná exprese KIT, EGFR a HER2 ve 4 (25 %), 5 (31 %) a 9 (56 %) případech, zatímco tyto nadměrné exprese u mezenchymální složky byly detekovány v 6 (38 %), 8 případech (50 %) a 1 (6 %) případu. KIT a EGFR byly zároveň exprimovány u mezenchymální složky ve 4 případech a u epiteliální složky ve 2 případech. Nicméně, nadměrná exprese HER2/neu byla ve většině případů detekována pouze v epiteliální složce a směřovala k tomu se vyskytovat nezávisle na nadměrné expresi KIT nebo EGFR. Metodou FISH, u jednoho ze 4 případů s nadměrnou expresí HER2 byla prokázána nízká hladina genové amplifikace. Ve dvou případech s nadměrnou expresí EGFR se vyskytoval přírůstek počtu alel nebo nastala polyploidizace chromozomu 7. Exprese KIT, EGFR a HER2 se lišila mezi epiteliálními a mezenchymálními složkami a regulace jejich exprese se zdá být důležitá pro vznik mezenchymální metaplázie u děložních karcinosarkomů. U těchto nádorových typů by mohly být strukturální a numerické poruchy chromozomů částečně zahrnuty do příčin nadměrné exprese EGFR a HER2 (Sawada a kol. 2003).

#### **3.3.4.2. Vliv exprese na prognózu bez léčby**

V případě endometriálních karcinosarkomů byla exprese EGFR identifikována u většiny tumorů (45/55, 82 %). Nadměrná exprese HER2 (3+) byla pozorována u 14/55 (25 %) případů a amplifikace genu HER2 byla pozorována u 11 (20 %) případů. Exprese EGFR a amplifikace genu HER2 nevykazovala významnou korelaci s progresí choroby.

Karcinomatózní složka tumorů častěji vykazovala nadměrnou expresi HER2 v porovnání se sarkomatózní komponentou (25 % vs. 4 %,  $P = 0,008$ ). Sarkomatózní složka tumorů častěji vykazovala nadměrnou expresi EGFR ve porovnání s karcinomatózní komponentou (44 % vs. 24 %). EGFR a HER-2 zjevně hrají roli v karcinogenezi endometriálních karcinosarkomů. Karcinomatózní a sarkomatózní elementy těchto tumorů vykazují spolehlivé rozdíly v charakteru exprese HER2 a EGFR podporující biologické rozdíly mezi těmito složkami. Studie, které vyhodnocují klinickou užitečnost HER2 nebo EGFR pro cílenou terapii v těchto tumorech, se zdají být oprávněné (Livasy a kol. 2006).



Další autoři analyzovali imunohistochemicky nadměrnou expresi HER-2/neu. HER-2/neu amplifikace byla testována fluorescenční in situ hybridizací u pozitivních případů. Pozorovali nadměrnou expresi HER2/neu u 9 případů (32,1 %) a HER2/neu amplifikaci DNA (= testováno metodou FISH) u všech čtyřech HER-2/neu (imunohistochemicky = na proteiny) pozitivních případů se skórem 3+. HER-2/neu exprese nekorelovala s klinickým výsledkem. Z tohoto důvodu, výsledky těchto analýz mohou podpořit složitý problém nové terapeutické cesty, která by mohla testovat roli anti-HER-2 (trastuzumab) u pacientek s pokročilými metastázami děložního karcinosarkomu (Raspollini a kol. 2006).

#### **3.3.4.3. Vliv exprese na výsledek léčby**

Další autoři popisují nadměrnou expresi HER-2/neu a amplifikaci onkogenu HER-2/neu v případě děložního karcinosarkomu vyskytujícího se u 46 leté ženy, která podstoupila amputaci prsu a dvouletou pooperační léčbu tamoxifenem, kvůli invazivní rakovině prsu. Důvodem je, že léčba tamoxifenem může způsobit vznik děložních nádorů. Ty by mohly být zvláštního charakteru a proto je vhodné zjišťovat jejich charakteristické rysy. Může to dovolit vyslovit hypotézu o terapeutickém konceptu, který zahrnuje inhibici HER-2/neu humanizovanými monoklonálními protilátkami také u pacientek s děložním karcisarkomem (Raspollini a kol. 2005).

## 4. Diskuse

Naše práce by mohla být přínosem do české literatury, jelikož v českém jazyce se o nádorovém markeru HER2/neu v souvislosti s nádory dělohy mnoho nedozvíme.

### 4.1. Porovnání metod v zahraniční literatuře

V zahraniční literatuře autoři upřednostňovali při vyšetření stavu exprese HER-2/neu v nádorových buňkách imunohistochemickou metodu před metodou PCR. Dále byla využita fluorescenční in situ hybridizace (FISH), kterou lze určit počet kopií kódujícího genu.

### 4.2. Normální tkáň a nenádorové choroby

Ejskjaer a kol. (2005) prováděli výzkum exprese čtyř receptorů epidermálních růstových faktorů (EGF) u premenopauzálních žen. Endometriální vzorky byly odebrány na 6+/- 1 den a 12 +/-1 den po ovulaci během jednoho a téhož menstruačního cyklu. Lidský receptor HER1 ukázal nejvyšší expresi během proliferační fáze, HER2 a HER4 během časně a HER3 během pozdní sekreční fáze menstruačního cyklu.

V práci Cinka a Filipa (2007) je uvedeno, že transmembránové HER receptory přenášejí extracelulární podněty do jádra buňky a po navázání ligandu na extracelulární doménu, dimerizaci receptoru a aktivaci tyrozinkinázy se spustí složitá signální kaskáda. Za fyziologického stavu jsou receptory HER rodiny důležité pro plynulou obnovu epitelálních tkání.

## 4.3. Nádory dělohy

### 4.3.1. Přehled počtů prací v jednotlivých podkapitolách zahraniční literatury

U endometriálního karcinomu jsme našli nejvíce prací, které posuzují vliv exprese HER2 na výsledek léčby. Proto tento histologický typ nádoru tedy můžeme doporučit lékařům na klinických pracovištích, aby se o něj zajímali a snažili se najít v české i zahraniční literatuře další údaje, neboť se domníváme, že právě tento druh nádoru je nejnadanějším kandidátem léčby založené na vyšetřování exprese HER2 u pacientek.

Ve čtyřech pracích se autoři zmiňují o tom, jak exprese HER2/neu může ovlivňovat klinickou léčbu pacientek s děložním serózním papilárním karcinomem endometria. V dalších 2 studiích se psalo o agresivitě tohoto nádoru u černošských pacientek, které inklinují k onemocnění tímto nádorem v časnějším věku. Buněčné linie USPC byly rezistentní k chemoterapii in vivo, cytotoxicitě NK buněk a ke komplementem zprostředkované cytotoxicitě in vitro, avšak u ADCC (na protilátce závislé buněčné cytotoxicitě) byla nalezena vysoká senzitivita k trastuzumabu.

Dalších 10 prací bylo zaměřeno na pacientky s karcinomem děložního hrdla. Závěrem jedné práce bylo, že žádný z primárních nádorů nebo z metastáz do lymfatických uzlin nevykazoval expresi proteinu HER2. Protein HER2 se tedy ukázal být špatným potenciálním terapeutickým cílem v léčbě rakoviny děložního hrdla. V jiné práci bylo pouze uvedeno, že vzrůstající exprese HER2 byla spojena se zlepšující se OS.

U děložních sarkomů bylo sledováno jenom v jakém procentu pacientek je pozitivita HER2, ale např. u endometrioidních karcinomů jsme našli 3 práce, ve kterých byla hledána korelace mezi pozitivitou na HER2 a přežitím bez léčby.

Ve 3 pracích o karcinosarkomech dělohy se autoři domnívají, že inhibice HER-2/neu humanizovanými monoklonálními protilátkami by mohla být reálná. Výsledky analýz mohou podpořit složitý problém nové terapeutické cesty, která by mohla testovat roli trastuzumabu u pacientek s pokročilými metastázami děložního karcinosarkomu.

Namátkově vytvořené tabulky imunohistochemické exprese HER2/neu v nádorech dělohy

| Druh nádoru                                           | % patientek s nadměrnou expresí HER2/neu                                                         | Odkaz do literatury                                                                                          |
|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Děložní serózní papilární karcinom</b>             | 62 % (27 % ++ a 35 % +++)<br>80 %<br>70 % černošky<br>24 % bělošky<br>17 %                       | Santin a kol. 2005<br>Santin a kol. 2005<br>Santin a kol. 2005<br>Santin a kol. 2005<br>Rolitsky a kol. 1999 |
| <b>Děložní sérózní karcinom</b>                       | 18,9 %<br>48 %                                                                                   | Nofech-Mozes a kol. 2008<br>Diaz-Montes a kol. 2006                                                          |
| <b>Karcinom hrdla děložního</b>                       | 0 %                                                                                              | Shen a kol. 2008                                                                                             |
| <b>Karcinosarkom</b><br>Složka:<br>Složka:<br>Složka: | Epitelová 22 %, Sarkomová 4,5 %<br>Epitelová 6 %, Sarkomová 0 %<br>Epitelová 56 %, Sarkomová 6 % | Amant a kol. 2004<br>Cimbaluk a kol. 2007<br>Sawada a kol. 2003                                              |
| <b>Sarkomy dělohy</b>                                 | Expresie 1+ nebo chybí                                                                           | Amant a kol. 2004                                                                                            |

#### 4.3.2. Vliv exprese HER2 na prognózu bez léčby léčby

Misirlioglu a kol. (2006) předpokládají, že u koček může onkoprotein C-erbB-2 hrát roli v patogenezi cystické endometriální hyperplázie společně s ER a PR, a že ER nehrají žádnou roli v mechanismu hnisavého zánětu dělohy, zatímco PR hrají roli v patogenezi jak CEH tak i hnisavého zánětu dělohy.

#### 4.3.2.1. Karcinomy endometria

Ejskjaer a kol. (2007) popsali expresi 4 receptorů, HER1, HER2, HER3, HER4 a šesti ligandů – amfiredulin, transformující růstový faktor alfa (TGF-alfa), epidermálnímu růstovému faktoru podobný (EGF like) heparin vázající růstový faktor (HB-EGF), betacelulin, epiregulin a EGF u rakoviny endometrioidního karcinomu endometria.

Podle autorů se charakter exprese u endometrioidního karcinomu endometria liší od charakteru u premenopauzálního a postmenopauzálního endometria. Nejpozoruhodnějším poznatkem je zvýšená hladina HER4, receptoru, která koreluje s příznivou prognózou u jiných typů rakoviny.

Benevolo a kol. (2007) se ve své studii zmiňuje o skutečnosti, že pacientky s pozitivním PW (= peritoneální výplach – pravděpodobně přítomnost nádorových buněk) a zároveň s pozitivitou nádoru na HER2 u endometriálního karcinomu dělohy vykazovaly celkově kratší dobu přežití ve srovnání s chováním HER2 negativních nádorů ( $p = 0,004$ ).

Gates a kol. (2006) dále zjistili, že nižší body mass index (BMI = tělesná váha [kg] / tělesná výška<sup>2</sup> [m]), používá se pro klasifikaci podváhy, nadváhy či různé stupně obezity) byl spojen s pokročilým stadiem nádoru ( $p = 0,04$ ) a expresí HER-2/neu. Z jejích 6h6 studie vyplynulo, že černošská rasa, vysoký stupeň exprese HER2/neu, pokročilé stadium a nedostatek exprese ER a PR byly spojeny se sníženou šancí na přežití.

#### 4.3.2.2. Karcinomy čípku

Niibe a kol. (2003) sledovali zda je exprese c-erbB-2/HER2 u děložního cervikálního karcinomu před léčbou prediktivním parametrem u pacientek s metastázou v para-aortické lymfatické uzlině (PALN) u pokročilé choroby po léčbě radioterapií (RT). Žádná z 21 sledovaných pacientek neměla vzdálené metastázy - kromě metastázy PALN. Multivariantní analýza s použitím Coxova modelu ukázala, že c-erbB-2/HER2 byl závislý prognostický faktor.

Fuchs a kol. (2007) obarvili 78 dlaždicobuněčných cervikálních karcinomů (SCC) imunohistochemicky na HER1 až HER4. Analýzy týkající se šance na přežití odhalily spojení nadměrné exprese HER1 s příznivým výsledkem přežití ( $p = 0,016$ ), zatímco nadměrná exprese HER2 a HER3 byla spojena s horší prognózou.

Kuroda a kol. (2006) identifikovali jedenáct případů s GCC (sklovitěbuněčný karcinom). Testy pro estrogenový receptor (ER), progesteronový receptor (PR) a protein HER2/neu byly provedeny na parafinových řezech. Mezi GCC případy, byla pozitivita ER, PR a HER2/neu u 2 (18,1 %), u 1 (9,1 %) a u 5 (45,4 %) případů. Výsledky demonstrující nadměrnou expresi HER2/neu mohou korelovat s více agresivním chováním a horším klinickým výsledkem u tohoto nádoru.

#### **4.3.2.3. Sarkomy dělohy**

Layfield a kol. (2000) ve své studii hodnotili 45 novotvarů hladkého svalstva dělohy na ploeditu DNA, na barvení oblastí jadérekových organizátorů pomocí stříbření (AgNOR), na procento jader s proliferačním jaderným antigenem (PCNA) a dále na expresi proteinu p53, HER-2/neu a MDM-2 proteinu a také na četnost mitóz a jaderný grading (= míra atypických nádorových změn buněčných jader).

Ukazatelé jako: stupeň atypičnosti (grading) buněčných jader ( $P < 0,002$ ), mitotická aktivita ( $P < 0,001$ ), průměrný AgNOR ( $P < 0,001$ ), četnost nukleárního antigenu PCNA ( $P = 0,02$ ) a exprese proteinu p53 ( $P = 0,02$ ) korelují s klinickým výsledkem. Nebyly statisticky zaznamenány žádné významné korelace mezi klinickým výsledkem a takovými kategoriemi jako expresí MDM-2, expresí HER-2/neu nebo ploeditou DNA.

#### **4.3.2.4. Karcinosarkomy dělohy**

Livasy a kol. (2006) uvádějí, že v případě endometriálních karcinosarkomů byla exprese EGFR identifikována u většiny tumorů (45/55, 82 %). Nadměrná exprese HER2 (3+) byla pozorována u 14/55 (25 %) případů a amplifikace genu HER2 byla pozorována u 11 (20 %) případů. Exprese EGFR a amplifikace genu HER2 nevykazovala významnou korelaci s progresí choroby.

Karcinomatózní a sarkomatózní elementy těchto tumorů vykazují spolehlivé rozdíly v charakteru exprese HER2 a EGFR podporující biologické rozdíly mezi těmito složkami. Studie, které vyhodnocují klinickou užitečnost HER2 nebo EGFR pro cílenou terapii v těchto tumorech, se zdají být oprávněné.

### **4.3.3. Vliv exprese HER2 na výsledek léčby**

Santin a kol. (2005) ve své práci upozorňují na skutečnost, že černošské pacientky inklinují k tomu, že onemocní v mladším věku ( $P = 0,02$ ), než je tomu u bělošských pacientek (trend  $P = 0,02$ ). Nadměrná exprese HER2/neu u děložního serózního papilárního karcinomu endometria je nezávislá, proměnlivá a je spojená se špatným klinickým výsledkem, vyskytuje se častěji u černošských žen a může přispívat k rasové nerovnosti týkající se doby přežití.

V další práci se Lee a kol. (2005) zaměřili na pacientky s karcinomem děložního hrdla léčené ozařováním. Byly pozorovány korelace mezi expresí HER2 a HER4 ( $P = 0,003$ ) a HER3 a HER4 ( $P = 0,004$ ). Jako závěr z této práce bylo uvedeno, že vzrůstající exprese HER2 byla spojena se zlepšující se OS (celkové přežití měřené od data stanovení diagnózy do úmrtí na jakoukoliv, i nenádorovou příčinu) po kontrolování předběžných klinických faktorů.

#### **4.3.3.1. Antiestrogeny**

Raspollini a kol. (2005) ve své práci uvádí, že se u 46 leté ženy, která podstoupila amputaci prsu a dvouletou pooperační léčbu tamoxifenem vyskytl děložní karcinosarkom. Léčba tamoxifenem tedy může u některých pacientek způsobit vznik děložních nádorů.

#### **4.3.3.2. Trastuzumab**

Santin a kol. (2008) ve svém článku popisují, jak trastuzumab působil u pacientek s recidivujícím nebo pokročilým karcinomem dělohy. U těchto pacientek s progresivním nebo s recidivující chorobou s tvorbou metastáz bylo docíleno zmírnění symptomů a prodloužení života bez závažných toxických účinků tohoto léčivého přípravku. Ze studie vyplývá, že pacientky by měli být vždy nejdříve vyšetřeny na expresi HER2/neu, než se jim podá tento lék.

Santin a kol. (2002) ve své práci prezentují úspěšnou inhibici proliferace buněk serózního papilárního děložního karcinomu Herceptinem. Výsledkem jeho studie bylo také zjištění, že ačkoliv buněčné linie USPC byly rezistentní k chemoterapii in vivo a k cytotoxicitě NK buněk a ke komplementem zprostředkované cytotoxicitě in vitro, tak u

ADCC (na protilátce závislé buněčné cytotoxicitě) byla nalezena vysoká senzitivita k Herceptinu.

#### **4.3.3.3. Jiná léčba**

Hajdúch a kol. (2002) se domnívají, že zvýšená exprese Her-2/neu u pacientek koreluje s dobrou odpovědí na léčbu paclitaxelem, i když nedochází k odstranění patologických změn v buňce.

Hovoříme-li o citlivosti Her-2/neu amplifikovaných buněk na cytostatika, je třeba podotknout, že citlivost na inhibitory topoizomerázy II (jako je například doxorubicin) může být způsobena i současnou amplifikací TOP2A genu.



## 5. Závěr

Od autorů zahraničních studií se nám podařilo získat nové informace o výskytu různých děložních nádorů s nadměrnou expresí HER2/neu. Z obsahu článků je zřejmé, že některé nádory se léčí trastuzumabem lépe (karcinomy endometria) nebo je můžeme s úspěchem léčit trastuzumabem v kombinaci s chemoterapií např. u pacientek s pokročilým, recidivujícím nebo metastazujícím endometriálním karcinomem, avšak jiné děložní nádory na tuto léčbu téměř nereagují. Nadměrná exprese HER2/neu je špatným terapeutickým cílem například u rakoviny děložního hrdla a pro děložní karcinosarkom. Je třeba podotknout, že obecně platí – čím větší je nadměrná exprese HER2/neu u nádoru, tím více je choroba agresivnější.

## 6. Seznam zkratek

ADCC - na protilátce závislá buněčná cytotoxicita (Antibody dependent cellular cytotoxicity)

ADH - atypická duktální hyperplázie

AgNOR - průkaz organizátorů jádérka stříbricí metodou (NOR = nuclear organizer region)

AR – amphiregulin

BCL - betacellulin

BMI – index tělesné hmotnosti (Body mass index)

CA-125 – glykoprotein vyskytující se na povrchu buněk u karcinomu dělohy, ovariálního karcinomu, karcinomu pankreatu a plic (CA = carbohydrate antigen)

CALO – nová buněčná linie cervikálního karcinomu

CEH-P - cystická endometriální hyperplázie - hnísavá (Endometrial hyperplasia-pyometra)

CGH - komparativní genomová hybridizace

CISH - chromogenní in situ hybridizace (Chromogen in situ hybridization)

CT – počítačová tomografie (Computer tomography)

DCIS - duktální karcinom in situ

DFS - doba měřená od radikálního chirurgického výkonu do objevení recidivy (Disease free survival)

DH - duktální hyperplázie

DIC - invazivní karcinom

EGF – epidermální růstový faktor (Epidermal growth factor)

EGFR - receptor epidermálního růstového faktoru (Epidermal growth factor receptor)

ELISA – enzymimunoanalýza (Enzyme-linked immunosorbent assay)

EP - epiregulin

ER – estrogenový receptor

FISH - fluorescenční in situ hybridizace (Fluorescence in situ hybridization)

GCC - sklovitěbuněčný cervikální karcinom (Glassy cell carcinoma of the cervix)

GeneChip - genetický či také DNA čip (DNA microarray)

(HB)-EGF - na heparin vázaný epidermální růstový faktor

HER2/neu = erbB-2 – receptor pro lidský epidermální růstový faktor 2 (Human epidermal growth factor receptor 2)

IHC – imunohistochemie

INBL - nová buněčná linie cervikálního karcinomu

KIT (c-kit, CD117) = transmembránový tyrozinkinázový receptor přítomný v hematopoetických kmenových buňkách, melanocytech, mastocytech, Cajalových buňkách, zárodečných buňkách, v buňkách bazálních vrstev kůže a duktálních epitelích prsní žlázy

MAPK – MAP kináza (Mitogen-activated protein kinase)

MDM-2 protein - buňka kontroluje hladinu, funkci a stabilitu p53 mnoha mechanismy, z nichž nejznámějším regulátorem je MDM2 lokalizovaný v oblasti q13-14 chromozomu 12 (Murine Double Minute 2 = Mouse Double Minute 2)

MMP – degradační enzymy metaloproteázy

NK buňky – přirození zabíječi (Natural killers)

OS - celkové přežití měřené od data stanovení diagnózy do úmrtí na jakoukoliv, i nenádorovou příčinu (Overall survival)

P-Akt - fosforylovaná forma protein kinázy B (Akt = alternativní název pro protein kinázu B)

PALN - para-aortická lymfatická uzlina (Para-aortic lymph node metastasis)

PCNA - proliferační jaderný antigen

PCR – polymerázová řetězová reakce (Polymerase chain reaction)

PI3 – fosfatidylinositol 3, reguluje především vnitrobuněčnou hladinu vápenatých iontů

PR = PgR – progesteronový receptor

RARA - receptor kyseliny  $\alpha$  retinové (Retinoic Acid Receptor Alpha)

RT – radioterapie

RT-PCR = real-time PCR, kvantitativní PCR v reálném čase

SCC - dlaždicobuněčných cervikálních karcinomů (Squamous cell cervical carcinomas)

SSCC - sarkomatoidní skvamózní buněčný karcinom (Sarcomatoid squamous cell carcinoma)

siRNA = malé interferující RNA (small interfering RNA)

TGF $\alpha$  - transformující růstový faktor  $\alpha$  (Transforming growth factor alpha)

TOP2A - gen pro topoizomerázu II $\alpha$

USC - děložní serózní karcinome (Uterine serous carcinoma)

USPC - děložní serózní papilární karcinom (Uterine serous papillary endometrial cancer)

## 7. Seznam literatury

ADAM Z., KALVODOVÁ L., NOVÝ F., SVOBODNÍK A., VORLÍČEK J.:  
Slovník odborných pojmů , Česká onkologická společnost ČLS J. E. Purkyně  
(<http://www.linkos.cz/pacienti/slovnicek.php>)

AMANT F., VLOEBERGHIS V., WOESTENBORGHIS H., DEBIEC-RYCHTER M.,  
VERBIST L., MOERMAN P., VERGOTE I.: ERBB-2 gene overexpression and amplification  
in uterine sarcomas, Gynecologic oncology, 95/3, 583-587, DEC 2004

BENEVOLO M., VOCATURO A., NOVELLI F., MARIANI L., VOCATURO G.,  
CIANCIULLI A., MARANDINO F., PERRONE-DONNORSO R., GIANNARELLI D.,  
NATALI P., MOTTOLESE M.: Prognostic value of HER2 and progesterone receptor  
expression in endometrial carcinoma with positive peritoneal washing, Anticancer research,  
27/4C, 2839-2844, JUL-AUG 2007

BRYS M., SEMCZUK A., RECHBERGER T., KRAJEWSKA W.: Expression of  
erbB-1 and erbB-2 genes in normal and pathological human endometrium, Oncology reports,  
18/1, 261-265, JUL 2007

BUDÍNSKÁ E., JARKOVSKÝ J., PAVLÍK T., NÉMETHOVÁ D., GELNAROVÁ  
E., KUBOŠOVÁ K.: Učební text pro účely výuky analýzy DNA microarray dat na PřF a LF  
MU, Institut biostatistiky a analýz PřF a LF MU, Brno 2006

CINEK P., FILIP S.: Membránový receptor Her2/neu - struktura a funkce,  
prognostický a prediktivní význam pro pacientky s invazivním karcinomem prsu, Vojenské  
zdravotnické listy, č. 6, ročník LXXVI, 2007

Oddělení klinické onkologie Ústřední vojenské nemocnice Praha, Praha

Klinika onkologie a radioterapie Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy,  
Hradec Králové , ([http://www.pmfhk.cz/VZLVZL6\\_07.pdf](http://www.pmfhk.cz/VZLVZL6_07.pdf))

CIMBALUK D., ROTMENSCH J., SCUDIÈRE J., GOWN A., BITTERMAN P.:  
Uterine carcinosarcoma - immunohistochemical studies on tissue microarrays with focus on  
potential therapeutic targets, Gynecologic oncology, 105/1, 138-144, APR 2007

CITTERBART K. a kol.: Gynekologie, nakladatelství Galén Praha, p.11, str. 155-168,  
2001

DIAZ-MONTES T., JI H., SEHDEV A., ZAHURAK M., KURMAN R., ARMSTRONG D., BRISTOW R.: Clinical significance of HER-2/neu overexpression in uterine serous carcinoma, *Gynecologic oncology*, 100 /1, 139-144, JAN 2006

EJSKJAER K., SORENSEN B., POULSEN S., FORMAN A., NEXO E., MOGENSEN O.: Expression of the epidermal growth factor system in endometrioid endometrial cancer, *Gynecologic oncology*, 104/1, 158-167, JAN 2007

EJSKJAER K., SORENSEN B., POULSEN S., MOGENSEN O., FORMAN A., NEXO E.: Expression of the epidermal growth factor system in human endometrium during the menstrual cycle, *Molecular human reproduction*, 11/8, 543-551, AUG 1 2005

FUCHS I., VORSTEHER N., BUHLER H., EVERS K., SEHOULI J., SCHALLER G., KUMMEL S.: The prognostic significance of human epidermal growth factor receptor correlations in squamous cell cervical carcinoma, *Anticancer research*, 27/2, 959-963, MAR-APR 2007

GATES E., HIRSCHFIELD L., MATTHEWS R., YAP O.: Body mass index as a prognostic factor in endometrioid adenocarcinoma of the endometrium, *Journal of the National medical association*, 98/11, 1814-1822, NOV 2006

HAJDÚCH M., JAROŠOVÁ M., TROJANEC R., INDRÁK K., ŠPAČKOVÁ K., PAPAŽÍK T., CWIERTKA K.: Cytogenetické a molekulárně biologické markery v onkologii solidních nádorů a hematologických malignit, 2004

Laboratoř experimentální medicíny při dětské klinice LF a FN Olomouc, Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

[http://www.linkos.cz/vzdelavani/zvl1\\_04/10.pdf](http://www.linkos.cz/vzdelavani/zvl1_04/10.pdf)

HAJDÚCH M., TROJANEC R., NOSKOVÁ V., DŽUBÁK P., KOLÁŘ Z., ŠPAČKOVÁ K., ŠKARDA J., DUŠEK L., BOUCHAL J., VYDRA D., CWIERTKA K., ŽALOUDEK J., MIHÁL V.: Racionální individualizace protinádorové léčby – molekulární, buněčné a klinické aspekty, Laboratoř experimentální medicíny při Dětské klinice LF UP a FN Olomouc, Laboratoř molekulární patologie při Ústavu patologie LF UP a FN Olomouc, Centrum informatiky a analýz MU Brno, Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc, Masarykův onkologický ústav v Brně, 2002

[http://www.lem-olomouc.cz/dokum/bod\\_mh.final.pdf](http://www.lem-olomouc.cz/dokum/bod_mh.final.pdf)

HORČIČKOVÁ Š.: Hormonální receptory v nádorech dělohy. Katedra biologických a lékařských věd (školitel Hochmann J.), Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, UK v Praze, 2007

CHAVEZ-BLANCO A., PEREZ-SANCHEZ V., GONZALEZ-FIERRO A., VELA-CHAVEZ T., CANDELARIA M., CETINA L., VIDAL S., DUENAS-GONZALEZ A. : HER2 expression in cervical cancer as a potential therapeutic target - art. no. 59, BMC Cancer, volume: 4, 59-59, SEP 1 2004

CHOVANEC J., DOSTÁLOVÁ Z.: Nádorové onemocnění těla děložního. Gynekologicko – porodnická klinika FN a LF MU Brno, 2006

([http://www.linkos.cz/pacienti/gyn\\_clanek6.php](http://www.linkos.cz/pacienti/gyn_clanek6.php))

KUESTERS S., MAURER M., BURGER A., METZ T., FIEBIG H.: Correlation of ErbB2 gene status, mRNA and protein expression in a panel of > 100 human tumor xenografts of different origin, Onkologie, 29/6 , str. 249 , 2006

KURODA H., TOYOZUMI Y., MASUDA T., OUGIDA T., HANAMI K., KYOKO K., TAMARU J., ITOYAMA S.: Glassy cell carcinoma of the cervix - Cytologic features and expression of estrogen receptor, progesterone receptor and HER2/neu protein, Acta cytologica, 50/4, 418-422, JUL-AUG 2006

LAYFIELD L., LIU K., DODGE R., BARSKY S.: Uterine smooth muscle tumors - Utility of classification by proliferation, ploidy, and prognostic markers versus traditional histopathology, Archives of pathology & laboratory medicine, 124/ 2, 221-227, FEB 2000

LEE C., SHRIEVE D., ZEMPOLICH K., LEE R., HAMMOND E., HANDRAHAN D., GAFFNEY D.: Correlation between human epidermal growth factor receptor family (EGFR, HER2, HER3, HER4), phosphorylated Akt (P-Akt), and clinical. outcomes after radiation therapy in carcinoma of the cervix, Gynecologic oncology, 99/2, 415-421, NOV 2005

LIN C., HO C., SHEN M., HUANG L., CHOU C.: Evidence of human papillomavirus infection, enhanced phosphorylation of retinoblastoma protein, and decreased apoptosis in sarcomatoid squamous cell carcinoma of uterine cervix, International journal of gynecological cancer, 16 /1, 336-340, JAN-FEB 2006

LIVASY C., READING F., MOORE D., BOGGESS J., LININGER R.: EGFR expression and HER2/neu overexpression/amplification in endometrial carcinosarcoma, Gynecologic oncology, 100 / 1, 101-106, JAN 2006

MISIRLIOGLU D., NAK D., SEVIMLI A., NAK Y., OZYIGIT M., AKKOC A., CANGUL I.: Steroid receptor expression and HER-2/neu (c-erbB-2) oncoprotein in the uterus of cats with cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex, Journal of veterinary medicine series A-physiology pathology clinical medicine, 53/5, 225-229, JUN 2006

NI J., NI Y., WANG X., XU W., WANG Y., XIONG S.: Application of a gene vaccine targeting HER-2/Neu in, DNA and cell biology, 23/12 , 807-814, DEC 2004

NIIBE Y., NAKANO T., OHNO T., SUZUKI Y., OKA K., TSUJII H.: Prognostic significance of c-erbB-2/HER2 expression in advanced uterine cervical carcinoma with para-aortic lymph node metastasis treated with radiation therapy, International journal of gynecological cancer, 13 /6, 849-855, NOV-DEC 2003

NOFECH-MOZES S., KHALIFA M., ISMIIL N., SAAD R., HANNA W., COVENS A., GHORAB Z.: Immunophenotyping of serous carcinoma of the female genital tract, Modern pathology, 21/9, str. 1147-1155, SEP 2008

RASPOLLINI M., SUSINI T., AMUNNI G., PAGLIERANI M., CASTIGLIONE F., GARBINI F., CARRIERO C., SCARSELLI G., TADDEI G.: Expression and amplification of HER-2/neu oncogene in uterine carcinosarcomas: a marker for potential molecularly targeted treatment?, International journal of gynecological cancer, 16/1, 416-422, JAN-FEB 2006

RASPOLLINI M., MECACCI F., PAGLIERANI M., MARCHIONNI M., TADDEI G.: HER-2/neu oncogene in uterine carcinosarcoma on tamoxifen therapy, Pathology research and practice, 201/2 , 141-144, 2005

ROB L.: Zhoubné nádory děložního hrdla (čípku). Gynekologicko-porodnická klinika FN Motol a 2. LF UK, 2006, [http://www.linkos.cz/pacienti/gyn\\_clanek3.php](http://www.linkos.cz/pacienti/gyn_clanek3.php) (16.7.2007)

ROLITSKY C., THEIL K., MCGAUGHY V., COPELAND L., NIEMANN T.: HER-2/neu amplification and overexpression in endometrial carcinoma, International journal of gynecological pathology, 18/2, 138-143, APR 1999

ROSTY C., COUTURIER J., VINCENT-SALOMON A., GENIN P., FRENEAUX P., SIGAL-ZAFRANI B., SASTRE-GARAU X.: Overexpression/amplification of HER-2/neu is uncommon in invasive carcinoma of the uterine cervix, International journal of gynecological pathology, 23/1, 13-17, JAN 2004

SANTIN A., BELLONE S., GOKDEN M., PALMIERI M., DUNN D., AGHA J., ROMAN J., HUTCHINS L., PECORELLI S., O'BRIEN T., CANNON M., PARHAM G.: Overexpression of HER-2/neu in uterine serous papillary cancer, Clinical cancer research, 8/5, 1271-1279, MAY 2002

SANTIN A., BELLONE S., ROMAN J., MCKENNEY J., PECORELLI S.: Trastuzumab treatment in patients with advanced or recurrent endometrial carcinoma overexpressing HER2/neu, International journal of gynecology & obstetrics, 102/ 2, 128-131, AUG 2008

SANTIN A., BELLONE S., SIEGEL E., PALMIERI M., THOMAS M., CANNON M., KAY H., ROMAN J., BURNETT A., PECORELLI S.: Racial differences in the overexpression of epidermal growth factor type II receptor (HER2/neu): A major prognostic indicator in uterine serous papillary cancer, American journal of obstetrics and gynecology, 192/3, 813-818, MAR 2005

SANTIN A., BELLONE S., VAN STEDUM S., BUSHEN W., DE LAS C., LE KOROURIAN S., TIAN E., ROMAN J., BURNETT A., PECORELLI S.: Determination of HER2/neu status in uterine serous papillary carcinoma: Comparative analysis of immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization, Gynecologic oncology, 98 /1, 24-30, JUL 2005

SAWADA M., TSUDA H., KIMURA M., OKAMOTO S., KITA T., KASAMATSU T., YAMADA T., KIKUCHI Y., HONJO H., MATSUBARA O.: Different expression patterns of KIT, EGFR, and HER-2 (c-erbB-2) oncoproteins between epithelial and mesenchymal components in uterine carcinosarcoma, Cancer science, 94 /11, 986-991, NOV 2003

SHEN L., SHUI Y., WANG X., SHENG L., YANG Z., XUE D., WEI Q.: EGFR and HER2 expression in primary cervical cancers and corresponding lymph node metastases: Implications for targeted radiotherapy - art. no. 232, BMC Cancer, 8, 232-232, AUG 2008

SCHWARTZ P.: The management of serous papillary uterine cancer, Current opinion in oncology, 18/ 5, 494-499, SEP 2006

SOTO-CRUZ I., CACERES-CORTES J., VALLE-MENDIOLA A., MORENO-MORALES X., SANTIAGO-PEREZ R., WEISS-STEIDER B., RANGEL-CORONA R.: The tyrophostin B42 inhibits cell proliferation and HER-2 autophosphorylation in cervical carcinoma cell lines, Cancer investigation, 26/2, 36-144, 2008

ŠEBO P.: Technologie DNA čipů (DNA matric – arrays) pro analýzu vztahu patogen – hostitel a vývojových očkovacích látek v postgenomickém období, MBÚ AV ČR 2003  
(<http://teacher.vscht.cz/dokumenty/Sbornikfinal.pdf>)

VIŠTEJNOVÁ L., HODEK J., SEKERKA P., OVESNÁ J., DEMNEROVÁ K.: Vývoj DNA čipů pro detekci geneticky modifikovaných organismů, Výzkumný ústav rostlinné výroby a Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT Praha 2006  
(<http://www.vscht.cz/anl/soutez2007/abstrakt-Vistejnova.pdf>)



