

## Kliniczne znaczenie zaburzeń HER2 w raku piersi z uwzględnieniem metod ich oznaczania

Liliana Krasieńska, Jacek Jassem

*Z uwagi na dużą liczbę zachorowań na raka piersi oraz nadal niezadawalające wyniki jego leczenia, poszukuje się nowych markerów biologicznych, które pozwoliłyby przewidzieć przebieg nowotworu i jego odpowiedź na leczenie. W ostatnich latach duże zainteresowanie wzbudza protoonkogen HER2, należący do rodziny receptorów dla naskórkowego czynnika wzrostu. Jego wzmożoną ekspresję lub amplifikację stwierdza się u 10-40% chorych na raka piersi. Nadekspresja lub amplifikacja HER2 pozwala przewidzieć skuteczność leczenia trastuzumabem – przeciwciałem monoklonalnym przeciw HER2. Ponadto zaburzenia HER2 stanowią najprawdopodobniej czynnik związany z efektem chemioterapii i hormonoterapii. Prawdopodobne rokownicze i predykcyjne znaczenie HER2 oraz możliwość celowanego leczenia trastuzumabem, nakazują poszukiwanie najbardziej wiarygodnej metody oznaczania tego markera. Analiza HER2 może być przeprowadzana za pomocą różnych metod, przy czym najczęściej oznacza się ekspresję białka metodą immunohistochemiczną. Obecnie metoda ta służy rutynowo do kwalifikacji chorych do leczenia trastuzumabem. Ostatnie badania sugerują jednak, że oznaczanie amplifikacji genu HER2 metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) jest bardziej wiarygodne i mogłoby się stać metodą standardową. Zagadnienie to omówiono w niniejszej pracy.*

### HER2 in breast cancer – the focus on assessment methods

*Breast cancer represents a major problem due to both high incidence rate and still unsatisfactory treatment results. Therefore, it has become increasingly important to identify markers of biologic aggressiveness and response to therapy. In recent years particular attention has been attracted by the HER2 protooncogene, a member of the human epidermal growth factor receptor family. Increased expression or amplification of HER2 has been demonstrated in 10-40% of breast cancer patients. This feature is associated with more aggressive tumor behaviour, particularly in node-positive patients. HER2 overexpression is the most important predictor of trastuzumab treatment efficacy, and may have a predictive role for chemotherapy and endocrine therapy. Possible prognostic and predictive role of HER2 status necessitates the development of an accurate and consistent method of its assessment. Numerous techniques have been used to assess HER2 gene amplification and overexpression. Currently, the most commonly used method is immunohistochemistry, which detects encoded protein. This assay has been widely accepted for patient selection to trastuzumab therapy. However, recent studies have demonstrated the superiority of the fluorescence in situ hybridization (FISH) method and its standard application has been suggested. This issue is discussed in the present review.*

**Słowa kluczowe:** rak piersi, HER2

**Key words:** breast cancer, HER2

### Wstęp

Rak piersi stanowi najczęstszy nowotwór złośliwy u kobiet w większości rozwiniętych państw świata. Pomimo ogromnego postępu w wykrywalności i leczeniu, umieralność z powodu tego nowotworu, w większości krajów świata, utrzymuje się nadal na wysokim poziomie. Biologia raka piersi różni się znacząco pomiędzy poszczególnymi chorymi. Obecnie poszukuje się narzędzi, które pozwoliłyby

precyzyjnie przewidzieć przebieg nowotworu już w momencie jego rozpoznania oraz zastosować leczenie z uwzględnieniem indywidualnych cech guza.

Wiadomo, że czynniki wzrostu oraz ich receptory odgrywają decydującą rolę w regulacji wzrostu i różnicowania się komórki. Do wzrostu nowotworu dochodzi, gdy zdarzenia genetyczne prowadzą do niekontrolowanej ekspresji receptorów dla czynników wzrostu lub ich ścieżek przekazywania sygnału. Gen ludzkiego receptora-2 dla naskórkowego czynnika wzrostu (*HER2* znany także jako *neu* i *c-erbB-2*) koduje przezbłonową glikoproteinę o masie cząsteczkowej 185 kDa. *HER2* jest członkiem rodziny czterech blisko spokrewnionych receptorów dla czynników

wzrostu (*EGFR/HER1/erbB-1*, *HER2/erbB-2*, *HER3/erbB-3* i *HER4/erbB-4*), spośród których wszystkie są przebiegowymi receptorami o aktywności kinazy tyrozynowej. W warunkach normalnych biorą one udział w kontroli wzrostu i różnicowania się komórek. Ekspresja HER2 wykazuje zmienność pomiędzy poszczególnymi tkankami, jednakże prawidłowe komórki pochodzenia nabłonkowego posiadają dwie kopie genu kodującego ten receptor. Nadekspresję białka HER2, która jest niemal wyłącznie wynikiem amplifikacji genu *HER2*, stwierdza się w różnych nowotworach nabłonkowych, w tym także w 10-40% przypadków raka piersi, zarówno w postaci *in situ*, jak i inwazyjnej [1-7].

Amplifikacja i/lub nadekspresja *HER2* prowadzą do 10–100-krotnego zwiększenia liczby monomerów receptora HER2 na powierzchni komórki [2]. Szereg doniesień wskazuje, że nadekspresja HER2 jest w raku piersi wskaźnikiem bardziej agresywnego przebiegu choroby. Amplifikacja genu *HER2* u chorych zarówno z cechą N+, jak i N-, jest silnym i niezależnym czynnikiem związanym z krótszym czasem do nawrotu, a u chorych z przerzutami do węzłów chłonnych – także z krótszym czasem całkowitego przeżycia [3, 4, 6-11]. Zmiany w HER2 współwystępują także z innymi czynnikami rokowniczymi, takimi jak stopień złośliwości histologicznej, typ histopatologiczny, nieobecność receptorów estrogenowych (ER) i progesteronowych (PR) oraz zajęcie węzłów chłonnych [5].

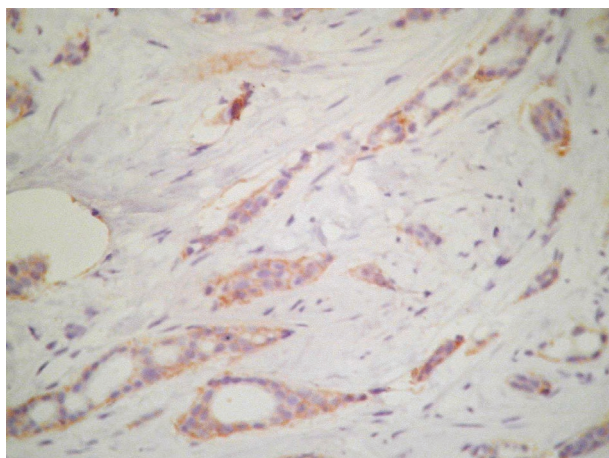
Sugeruje się także, że stan HER2 w raku piersi może być przydatny w wyborze schematu leczenia chemicznego i hormonalnego. Pierwsze doniesienia sugerowały, że nowotwory wykazujące nadekspresję HER2 są odporne na chemioterapię według schematu CMF [11,12]. Wyniki późniejszych badań wykazały jednakże, że chemioterapia CMF jest równie skuteczna w nowotworach HER2+ i HER2- [13, 14]. W licznych badaniach próbowano określić potencjalny związek pomiędzy stanem HER2, a odpowiedzią na schematy chemioterapii, zawierające antracykliny. Chore, których guzy wykazują nadekspresję HER2, odnoszą większą korzyść z leczenia schematami zawierającymi antracykliny [15, 16]; przy czym efekt ten jest także zależny od dawki tych leków [17, 18]. Ponadto wydaje

się, że stan HER2 może stanowić wskaźnik oporności na tamoksyfen [19-21]. W przeprowadzonej metaanalizie 7 badań stwierdzono oporność na tamoksyfen rozsiańskich raków piersi, wykazujących nadekspresję HER2 (względne ryzyko progresji choroby było niemal 2,5 raza wyższe, w porównaniu do chorych bez ekspresji) [22]. Zależność pomiędzy stanem HER2 a skutecznością leczenia hormonalnego jest jednak dyskusyjna, bowiem wyniki poszczególnych badań dotyczących tego zagadnienia są sprzeczne [23-25].

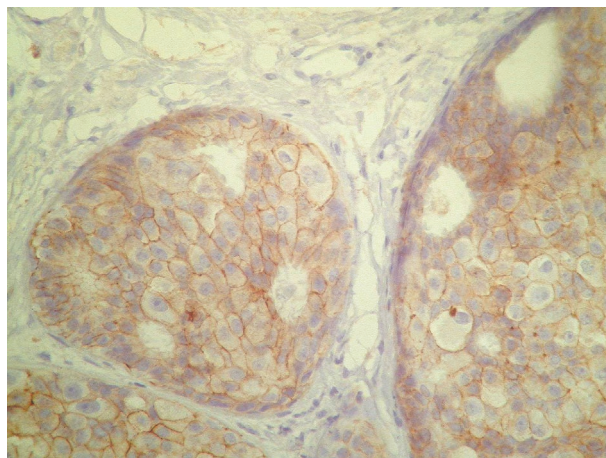
### Metody oznaczania HER2

Analiza stanu HER2 może być przeprowadzona za pomocą kilku metod, różniących się rodzajem wykrywanej cząsteczki: 1) amplifikacji genu – metodą *Southern blot*, łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR) lub fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH); 2) mRNA – *Northern blot* lub 3) nadekspresji białka – przy zastosowaniu testu ELISA, *Western blot*, metody immunohistochemicznej (IHC) lub oceny stężenia wolnej zewnątrzkomórkowej domeny receptora ( $ECD^{HER2}$ ) we krwi. Ta ostatnia metoda wzbudzała ostatnio szczególne zainteresowanie. Pojawiły się doniesienia dotyczące związku pomiędzy obecnością podwyższonego poziomu krążącego  $ECD^{HER2}$  a odpowiedzią na leczenie i rokowanie chorych na raka piersi. Jednakże, wbrew pierwotnym przypuszczeniom, obecność krążącego  $ECD^{HER2}$  nie zawsze jest związana z zaawansowaniem nowotworu. Ponadto najprawdopodobniej domena ta jest uwalniana do krążenia tylko przez niektóre nowotwory HER2+, w procesie regulowanym przez swoiste metaloproteiny [26].

Większość testów służy wykrywaniu białka lub DNA; rzadko docelową cząsteczkę stanowi mRNA. W praktyce najczęściej stosowana jest IHC, obecnie dostępna jako standardowa technika w wielu pracowniach patomorfologicznych (Ryc. 1.). Jest ona względnie tania i mało pracochłonna oraz pozwala wykryć nadekspresję białka HER2 w pojedynczych komórkach nowotworowych. Jej wadą jest znaczna zmienność wyników. Są one zależne od rodzaju zastosowanego przeciwciała, epitopu, przeciwko



Ryc. 1A



Ryc. 1B

**Ryc. 1.** Przykład oceny ekspresji HER2 w raku piersi w badaniu immunohistochemicznym. A) słaba ekspresja HER2 (+); B) silna ekspresja HER2 (+++) (Dzięki uprzejmości Zakładu Patomorfologii Akademii Medycznej w Gdańsku).

któremu jest ono skierowane (wewnątrz- czy zewnątrz-komórkowy), metody wykrywania przeciwciała, użycia tkanki mrożonej lub bloków parafinowych, a w tym ostatnim przypadku – czasu pomiędzy usunięciem guza a jego utrwaleniem, rodzaju utrwalacza [27] oraz ewentualnej obróbki materiału, poprzedzającej IHC. Ponadto IHC opiera się na subiektywnej ocenie wyniku barwienia. Wyrazem tych trudności jest szeroki zakres stwierdzanej nadekspresji HER2 w poszczególnych badaniach (od 2 do 42%), związany ze stosowaniem różnych przeciwciał [26, 27]. IHC stwarza także względnie wysokie ryzyko uzyskania zarówno wyników fałszywie dodatnich, jak i fałszywie ujemnych [28]. Te pierwsze mogą być związane z nieswoistym wiązaniem się przeciwciała z innym białkiem, natomiast drugie – z niewłaściwie przeprowadzonym testem albo utratą antygeny w czasie utrwalania lub obróbki preparatów. Przy stosowaniu IHC konieczna jest kontrola jakości oraz zgodności uzyskiwanych wyników ze standardowymi wzorcami nasilenia odczynu. Jedną z możliwości standaryzacji IHC jest stałe używanie jednego komercyjnego testu, na przykład HercepTestu® (DAKO), wykorzystującego przeciwciała poliklonalne. Przeciwciała to zatwierdzono do rutynowego stosowania, opierając się na pierwszych badaniach klinicznych z zastosowaniem trastuzumabu. Wykazano w nich zadowalającą zgodność pomiędzy nadekspresją HER2, ocenioną tą metodą a wynikami leczenia trastuzumabem. Test ten arbitralnie szereguje nasilenie barwienia błonowego za pomocą 4-stopniowej skali. Zapewnia on także standaryzację procedury oraz zawiera zestaw kontrolny, w odniesieniu do którego ocenia się uzyskany wynik. HercepTest® został zatwierdzony przez amerykańską agencję FDA (*Food and Drug Administration*) do rutynowych oznaczeń HER2 u chorych z rozsiałym rakiem piersi, kwalifikowanych do leczenia trastuzumabem. Z drugiej strony, test ten nie był stosowany w dotychczas opublikowanych badaniach klinicznych, na podstawie których określono skuteczność trastuzumabu; posługiwano się w nich testami IHC, przeznaczonymi wyłącznie na użytek

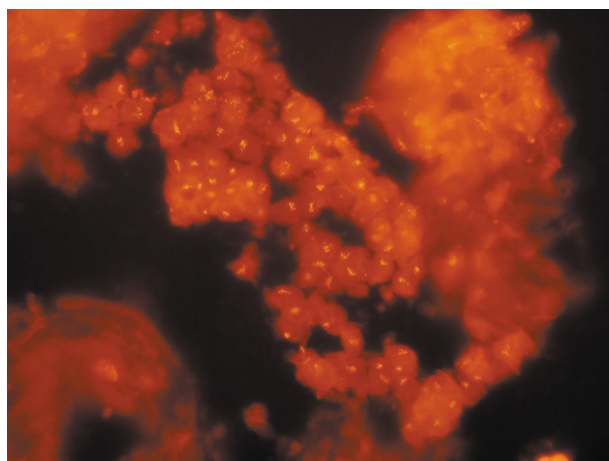
danego badania (tzw. CTA – *Clinical Trial Assay*). Wartość predykcyjna HercepTestu® wymaga zatem potwierdzenia w prospektywnych badaniach.

Rzadziej stosowaną metodą oceny stanu HER jest fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (FISH) (Ryc. 2.). Uwidacznia ona DNA genu *HER2* w poszczególnych komórkach za pomocą swoistych oligonukleotydów, znakowanych fluorescencyjnie, komplementarnych w stosunku do poszukiwanego fragmentu DNA. Jedną z zalet tej metody jest wykrycie amplifikacji genu w pojedynczych komórkach nowotworowych. Jest ona ponadto bardziej czuła i swoista w porównaniu do IHC. Nie istnieje tu również ryzyko uzyskania wyniku fałszywie ujemnego, spowodowanego utratą antygeny białkowego, do czego może dojść w trakcie utrwalania w formalinie. FISH jest jednak metodą droższą, wymagającą większego nakładu pracy oraz zastosowania mikroskopu fluorescencyjnego, niedostępnego w większości pracowni patologicznych. Trudniejsza i wymagająca znacznego doświadczenia jest także interpretacja wyników. Zwrócono również uwagę na konieczność standaryzacji punktu odcięcia dla tej metody, tzn. określenia liczby kopii genu, przypadającej na jądro komórkowe, przy której uznaje się obecność amplifikacji. W badaniach dotyczących rokowniczego i predykcyjnego znaczenia HER2, przyjmowana jako punkt odcięcia, liczba kopii genu znacznie się różniła. Utrudnia to interpretację uzyskiwanych wyników, które są niejednokrotnie sprzeczne.

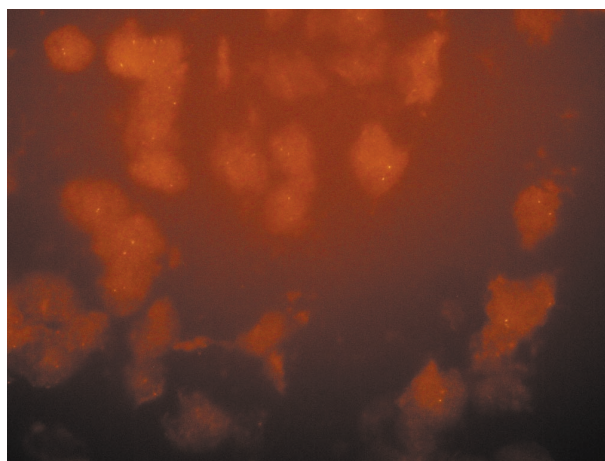
Obie wymienione metody oznaczania HER2 mają zatem pewne zalety, ale również wady – zestawiono je w Tabeli I.

### Kontrowersje wokół najczęściej stosowanych metod

Wiarygodność oceny stanu HER2 jest szczególnie istotna w kontekście bardzo wysokiego kosztu i względnie dużej toksyczności leczenia trastuzumabem. Z tego powodu konieczne jest poszukiwanie odpowiedzi na pytanie, która ze stosowanych metod oznaczania HER2 jest najlepsza, tzn.



Ryc. 2A.



Ryc. 2B.

**Ryc. 2.** Przykład analizy amplifikacji genu *HER2* w raku piersi za pomocą metody FISH. A) amplifikacja genu *HER2* w raku piersi; B) prawidłowa liczba kopii genu *HER2* w raku piersi. W obydwu przypadkach użyto sondy komplementarnej do genu *HER2* (firmy Zymed), znakowanej digoksygeniną i przeciwciała przeciwko digoksygeninie, znakowanego rodaminą (znakowania pośrednie). (Zdjęcia zostały wykonane w Zakładzie Patologii Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie przez Panią mgr Annę Mrozkowiak).

Tab. I. Porównanie IHC i FISH

	IHC	FISH
Zalety	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Powszechność w laboratoriach klinicznych</li> <li>2. Niski koszt</li> <li>3. Mniejsza pracochłonność</li> <li>4. Wysoka zgodność z wynikami FISH przy wyniku ujemnym (0 lub +) lub wysoce dodatnim (+++)</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Wyższa czułość i swoistość</li> <li>2. Brak wpływu przechowywania materiału na wyniki (przy badaniu genu nie zachodzi obawa utraty antygeny, związanej z utrwaleniem w formalinie)</li> <li>3. Możliwość ilościowej oceny liczby kopii genów <i>HER2</i></li> </ol>
Wady	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Konieczna kontrola jakości i potwierdzenie wyniku ze standardowymi wynikami dodatnimi i ujemnymi lub innymi testami IHC, korelującymi z wynikami klinicznymi</li> <li>2. Zależność wyników od wielu czynników: <ul style="list-style-type: none"> <li>– Rodzaju przeciwciała</li> <li>– Techniki wykrywania</li> <li>– Użycia materiału mrożonego lub utrwalonego w parafinie (czas od chirurgicznego usunięcia do utrwalenia)</li> <li>– Warunków przechowywania materiału: zastosowany utrwalacz, barwienie</li> </ul> </li> <li>3. Brak jednolitych kryteriów oceny poziomu dodatnich wyników (intensywność barwnej reakcji enzymatycznej) i systemu podliczania wyników</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Wyższy koszt metody</li> <li>2. Większy nakład pracy</li> <li>3. Konieczność zastosowania mikroskopu fluorescencyjnego</li> </ol>

pozwała uzyskać wiarygodne i powtarzalne wyniki. Ostatnio ukazało się kilka doniesień, w których porównywano dwie najczęściej stosowane metody: IHC i FISH. Zgodność wyników uzyskiwanych przy ich użyciu mieści się w szerokich granicach, od 70 do 90% [5, 27-31], przy czym jest ona znacząco wyższa, sięgająca nawet 100%, w odniesieniu do guzów z wysoką (+++) nadekspresją *HER2* (Tab. II). W tych przypadkach badanie FISH nie dostarcza zatem dodatkowej informacji i nie jest przydatne. Amplifikacji genu *HER2* nie stwierdza się natomiast w około 70% nowotworów wykazujących pośrednie nasilenie barwienia IHC (++) [27, 29, 30].

Rozbieżność pomiędzy wynikami oceny stanu *HER2* przy zastosowaniu IHC i FISH może wskazywać na fałszywie ujemny wynik tego ostatniego badania w części przypadków, ale też może być spowodowana zwiększoną ekspresją genu na poziomie transkrypcji, bez towarzyszącej amplifikacji genu. Próbę rozstrzygnięcia tej kwestii podjęli Tubbs i wsp. [29], którzy oceniali stan *HER2* równocześnie przy użyciu IHC (przeciwciała HercepTest® i CB11) oraz FISH. Następnie, we wszystkich przypadkach, w których stwierdzili rozbieżność pomiędzy wynikami uzyskanymi w obydwu metodach, określany był poziom ekspresji mRNA. W 93% guzów fałszywie dodatnich w badaniu HercepTest® oraz 87% guzów fałszywie

dodatnich w badaniu CB11 nie stwierdzono ekspresji mRNA. Większość tych przypadków należała do grupy wykazującej pośrednią ekspresję (++) *HER2*, bowiem przy silnej ekspresji (+++) zgodność obu metod z badaniem FISH była bardzo wysoka. Badanie to dowiodło, że rozbieżności w wynikach pomiędzy IHC a FISH nie są spowodowane zaburzeniem transkrypcyjnej regulacji z towarzyszącą nadekspresją mRNA i białka *HER2* bez amplifikacji genu, ale raczej fałszywie dodatnimi wynikami IHC. W kontekście tych wyników pojawiły się opinie, że mimo większej swoistości FISH, metodą z wyboru w badaniu stanu *HER2* powinna być jednak IHC. Wskazuje się, że stosowane w leczeniu rozlanego raka piersi przeciwciała monoklonalne skierowane jest przeciwko wykazującemu nadekspresję białku, a nie przeciwko zamplifikowanemu genowi. Sugerowano, że należy raczej podjąć próbę standaryzacji IHC, by z czasem określanie *HER2* za pomocą tej metody mogło się stać równie rutynowym testem, co badanie receptorów ER i PR. Aczkolwiek argumenty te wydawały się racjonalne, ostatnio sugeruje się, że FISH jest najbardziej wiarygodną metodą oznaczania *HER2* w celu kwalifikacji do leczenia trastuzumabem [5, 30, 31]. Mass i wsp. [30] dokonali za pomocą FISH ponownej analizy preparatów pochodzących od 451 chorych na rozlanego raka piersi, leczonych w randomi-

Tab. II. Zgodność pomiędzy wynikami analizy *HER2* w raku piersi metodą IHC (z zastosowaniem różnych przeciwciał) oraz FISH

Wynik IHC	Badanie / zastosowane przeciwciała								
	Lebeau i wsp. [27]		Mass i wsp. [30]		Cobleigh i wsp. [31]		Harris i wsp. [28]	Tubbs i wsp. [29]	Pauletti i wsp. [4]
	HercepTest	CB11	A0485	CTA	CTA	CTA	CB11	HercepTest + CB11	R60
0-1+	np	np	np	np	np	np	np	np	37%
2+	25%	78%	24%	24%	np	np	np	17%	69%
3+	100%	100%	100%	89%	92%	87%	79%	79%	91%
łącznie	np	np	np	76%	80%	77%	85%	85%	np

CTA – *Clinical Trial Antibody*, przeciwciała stosowane tylko na użytek danego badania klinicznego  
np – nie podano



zowanym badaniu, określającym skuteczność wyłącznej chemioterapii oraz chemioterapii skojarzonej z trastuzumabem. W grupie wykazującej amplifikację genu *HER2* stwierdzono znacząco wyższy odsetek odpowiedzi na leczenie z udziałem trastuzumabu (54% w porównaniu z 31% u chorych leczonych wyłącznie chemicznie,  $p < 0,0001$ ) oraz wydłużenie całkowitego czasu przeżycia (mediana odpowiednio: 26,2 i 20,0 miesięcy,  $p = 0,0007$ ). Korzyści z dodania trastuzumabu do konwencjonalnego leczenia nie obserwowano natomiast u chorych IHC(+)/FISH(-). Podobne wyniki uzyskano, analizując badania randomizowane z trastuzumabem stosowanym w monoterapii, w leczeniu drugiego i trzeciego rzutu oraz w leczeniu pierwszorazowym [31], do których kwalifikowano chorych na podstawie dodatniego wyniku IHC (++ lub +++). W grupie chorych IHC(+)/FISH(-) nie obserwowano całkowitych remisji, a remisje częściowe występowały tylko u 3% chorych. Pauletti i wsp. [5] retrospektywnie analizowali stan HER2 przy użyciu IHC oraz FISH u 900 chorych w stopniu zaawansowania I-III, dokonując równoczesnej oceny zależności czasu przeżycia od obecności HER2, określonej obydwoma metodami. Nie obserwowano różnic w czasie przeżycia chorych IHC(+)/FISH(-) i IHC(-)/FISH(-). Z kolei prawdopodobieństwo przeżycia u chorych IHC(-)/FISH(+) i IHC(+)/FISH(+) było podobne i znacząco niższe niż w obu grupach FISH(-). Wysłunięto przypuszczenie, że podwyższenie poziomu białka HER2, towarzyszące aktywacji transkrypcyjnej genu *HER2*, przy nieobecności amplifikacji jest nieznaczne i nie wpływa na czas przeżycia chorych. W tym przypadku amplifikacja lepiej korelowała z frakcją aktywnych receptorów *HER2*.

Badania te potwierdziły także wysoką zgodność silnej ekspresji *HER2* (+++) z amplifikacją genu *HER2* w badaniu FISH oraz rozstrzygającą wartość tego ostatniego badania w przypadku pośredniego wyniku barwienia IHC (++). Przyjęcie takiego schematu postępowania pozwoliłoby wyeliminować niedoskonałość HercepTestu®.

Ostatnio Ilersich i wsp. [32] przedstawili analizę ekonomiczną oznaczania IHC oraz FISH, przy założeniu idealnych warunków. W badaniu tym FISH okazała się metodą przynoszącą większe korzyści w odniesieniu do poniesionych kosztów. Podkreślono jednak, że z uwagi na małą dostępność FISH należy tymczasem dążyć do optymalizacji IHC, stosowanej jako jedyna metoda lub w połączeniu z FISH.

## Podsumowanie

Nasilona ekspresja białka HER stanowi ważny czynnik rokowniczy i predykcyjny u chorych na raka piersi. Jest ona wskaźnikiem złego rokowania – stwierdza się ją w nowotworach bardziej agresywnych, związanych z krótszym czasem całkowitego przeżycia oraz czasem do nawrotu choroby. Określenie stanu HER2 jest niezbędnym warunkiem kwalifikacji chorych do leczenia trastuzumabem. Badanie to wydaje się także przydatne w wyborze schematów chemioterapii i hormonoterapii. Dotychczasowe prace dotyczące cech HER mają charakter retrospektywny.

Podkreśla się zatem konieczność przeprowadzenia dużych badań klinicznych, w których stan HER2 oznaczany będzie prospektywnie, a moc testów statystycznych umożliwi przeprowadzenie wiarygodnych porównań. Opracowanie łatwego i dostępnego w większości pracowni patomorfologicznych testu dla oznaczania HER2 może przynieść istotny postęp w leczeniu chorych na raka piersi. Najłatwiejszą i najczęściej stosowaną metodą jest IHC, jednak ma ona pewne ograniczenia i postuluje się zastąpienie jej przez FISH. Przedmiotem obecnie prowadzonych badań jest ocena korzyści związanych z leczeniem trastuzumabem w przypadku guzów z silną ekspresją (+++), nie wykazujących amplifikacji. Mogą one ostatecznie wykazać, że przy wyborze chorych do leczenia tym przeciwciałem monoklonalnym jedyną metodą oceny stanu HER2 powinien być test FISH.

## Podziękowanie

Autorzy pracy dziękują Panu prof. Włodzimierzowi Olszewskiemu oraz Pani mgr Annie Mrozkowiak z Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie za udostępnienie zdjęć dotyczących amplifikacji genu *HER2*, oraz Panu dr. hab. Kazimierzowi Jaśkiewiczowi z Zakładu Patomorfologii Akademii Medycznej w Gdańsku za udostępnienie zdjęć dotyczących badań immunohistochemicznych.

**Dr Liliana Krasieńska**  
Klinika Onkologii i Radioterapii AMG  
81-211 Gdańsk, ul. Dębinki 7  
e-mail: lilianak@poczta.onet.pl

## Piśmiennictwo

1. Hynes NE, Stern DF. The biology of erbB-2/neu/HER-2 and its role in cancer. *Biochem Biophys Acta* 1994; 1198: 165-84.
2. Dowsett M, Cooke T, Ellis I i wsp. Assessment of HER2 status in breast cancer: why, when and how? *Eur J Cancer* 2000; 36: 170-76.
3. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG i wsp. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987; 235: 177-182.
4. Rosen PP, Lesser ML, Arroyo CD i wsp. Immunohistochemical detection of HER2/neu in patients with axillary lymph node negative breast carcinoma. *Cancer* 1995; 75: 1320-26.
5. Pauletti G, Dandekar S, Rong HM i wsp. Assessment of methods for tissue-based detection of the HER-2/neu alteration in human breast cancer: a direct comparison of fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 2000; 18: 3651-64.
6. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA i wsp. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian carcinoma. *Science* 1989; 244: 707-12.
7. Ross JS i Fletcher JA. The HER-2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. *Stem Cells* 1998; 16: 413-28.
8. Seshardi R, Fergaira FA, Horsfall DJ i wsp. Clinical significance of HER-2/neu oncogene amplification in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1936-42.
9. Andrulis IL, Bull SB, Blackstein ME i wsp. neu/erbB2 amplification identifies a poor-prognosis group of women with node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 1998; 16: 1340-49.

10. Press MF, Bernastein L, Thomas PA i wsp. HER2/neu gene amplification characterized by florescence in situ hybridization: poor prognosis in node-negative breast carcinomas. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2894-904.
11. Gusterson BA, Gelber RD, Goldfish KN i wsp. Prognostic significance of c-erbB2 expression in breast cancer. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1049-56.
12. Allred DC, Clark GM, Tandon AK i wsp. HER-2/neu in node-negative breast cancer: prognostic significance of overexpression influenced by the presence of in situ carcinoma. *J Clin Oncol* 1992; 10: 599-605.
13. Menard S, Valagussa P, Pilotti S i wsp. Response to cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil in lymph node-positive breast cancer according to HER2 overexpression and other tumor biologic variables. *J Clin Oncol* 2001; 19: 329-335.
14. Miles DW, Harris WH, Gillett CE i wsp. Effect of c-erbB(2) and estrogen receptor status on survival of women with primary breast cancer treated with adjuvant cyclophosphamide/methotrexate/fluorouracil. *Int J Cancer* 1999; 84: 354-59.
15. Paik S, Bryant J, Tan-Chiu E i wsp. HER2 and choice of adjuvant chemotherapy for invasive breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-15. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1991-98.
16. Paik S, Bryant J, Park Ch i wsp. erbB-2 and response to doxorubicin in patients with axillary lymph node-positive, hormone receptor-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1361-70.
17. Muss HB, Thor AD, Berry DA i wsp. c-erbB-2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *N Eng J Med* 1994; 330: 1260-66.
18. Thor AD, Berry DA, Budman DR i wsp. ErbB-2, p53, and efficacy of adjuvant therapy in lymph node-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1346-70.
19. Leitzel K, Teramoto Y, Konrad K i wsp. Elevated serum c-erbB-2 antigen levels and decreased response to hormone therapy of breast cancer. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1129-35.
20. Wright C, Nicholson S, Angus B i wsp. Relationship between c-erbB-2 protein product expression and response to endocrine therapy in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 1992; 65: 118-21.
21. Yamauchi H, O'Neil A, Gelman R i wsp. Prediction of response to antiestrogen therapy in advanced breast cancer patients by pretreatment circulating levels of extracellular domain of the HER-2/c-neu protein. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2518-25.
22. De Laurentis M, Arpino G, Massarelli E i wsp. A metaanalysis of the interaction between Her2 and the response to endocrine therapy (ET) in metastatic breast cancer (MBC). ASCO 2000; 19: Abstract 301.
23. Berry DA, Muss HB, Thor AD i wsp. HER-2/ neu and p53 expression versus Tamoxifen resistance in estrogen receptor-positive, node-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18: 3471-79.
24. Knoop AS, Bentzen SM, Nielsen MM i wsp. Value of epidermal growth factor receptor, HER2, p53 and steroid receptors in predicting the efficacy of Tamoxifen in high-risk postmenopausal breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3376-84.
25. Bianco AR, De Laurentis M, Carlomabno C i wsp. HER2 overexpression predicts adjuvant tamoxifen (TAM) failure for early breast cancer (EBC): Complete data at 20 yr of the Naples GUN randomized trial. ASCO 2000, Abstract 289.
26. Van de Vijver MJ. Assessment of the need and appropriate method for testing for the human epidermal growth factor receptor-2 (HER2). *Eur J Cancer* 2001; 37: 11-17.
27. Lebeau A, Deimling D, Kaltz C i wsp. HER-2/neu analysis in archival tissue samples of human breast cancer: comparison of immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *J Clin Oncol* 2001; 19: 354-63.
28. Harris LN, Liotcheva V, Broadwater G i wsp. Comparison of the methods of measuring HER-2 in metastatic breast cancer patients treated with high-dose chemotherapy. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1698-1706.
29. Tubbs RR, Pettay JD, Roche PC i wsp. Discrepancies in clinical laboratory testing of eligibility for trastuzumab therapy: apparent immunohistochemical false-positives do not get the message. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2714-21.
30. Mass RD, Press M, Anderson S i wsp. Improved survival benefit from Herceptin (trastuzumab) inpatients selected by fluorescence in situ hybridization (FISH). ASCO 2001, Abstract 85.
31. Cobleigh M, Vogel C, Tripathy D i wsp. Fluorescence in situ hybridization (FISH) may accurately select patients likely to benefit from herceptin monotherapy. ECCO 11 – 2001; Abstract 701.
32. Ilersich L, Deschenes J, Tetu B i wsp. Cmetastatic breast cancer (MBC): an analysis of immuno-histochemistry (IHC), ft in-situ hybridization and Canadian Consensus Guidelines. ASCO 2001; Abstract 992.

Otrzymano: 24 czerwca 2002 r.

Przyjęto do druku: 27 listopada 2002 r.