

PAWEŁ SEDLACZEK¹, EWA SOBAŃSKA¹, MARIAN GRYBOŚ², ANTONINA HARŁOZIŃSKA-SZMYRKA¹

Ocena zależności między ekspresją HER2/NEU (C-ERBB-2) w tkance a stężeniem w surowicy i płynach nowotworowych u chorych na raka jajnika

Relations Between HER2/NEU (C-ERBB-2) Expression in Tissue and Concentration in the Serum and Tumor Effusions of Patients with Ovarian Carcinoma

¹ Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej AM we Wrocławiu

² I Katedra i Klinika Ginekologii i Położnictwa AM we Wrocławiu

Streszczenie

Wprowadzenie. HER2/NEU jest receptorem o aktywności kinazy tyrozynowej uczestniczącym w przekazywaniu sygnałów wzrostowych.

Cel pracy. Porównawcza analiza ekspresji HER2/NEU w tkankach nowotworowych i komórkach płynów torbieli i/lub wysięków różnych histologicznie raków jajnika ze stężeniem uwalnianego antygenu do płynów nowotworowych i surowicy chorych.

Materiał i metody. Ekspresję HER2/NEU w tkankach i komórkach nowotworowych oceniano testem immunohistochemicznym, a stężenie uwalnianego antygenu metodą ELISA.

Wyniki. Wykazano znaczną heterogenność zarówno w ekspresji HER2/NEU w tkankach, jak i stężeniach antygenu uwalnianego do płynów ustrojowych i krążenia chorych. Po raz pierwszy wykazano istotnie większe stężenia HER2/NEU w płynach nowotworowych aniżeli w surowicy chorych, przy czym silna ekspresja tej onkoproteiny na poziomie tkanki powodowała większe stężenia krążącego receptora w płynach torbieli i wysiękach w porównaniu z surowicami tych samych chorych.

Wnioski. Wykazano, że nadekspresja i duże stężenie HER2/NEU w płynach nowotworowych pozwala na wyodrębnienie podgrupy chorych na raka jajnika o bardziej agresywnym przebiegu choroby (*Adv Clin Exp Med* 2005, 14, 4, 663–669).

Słowa kluczowe: HER2/NEU, raki jajnika, tkanka, surowica, płyny nowotworowe.

Abstract

Background. HER2/NEU is a tyrosine kinase receptor associated with signal transduction pathway.

Objectives. Comparison of HER2/NEU expression in tissue sections and respective cyst and/or ascitic fluid cells with the concentration of antigen in sera and tumor effusions of patients with histologically different ovarian carcinoma.

Material and Methods. The overexpression of HER2/NEU was evaluated immunohistochemically and the concentration of antigen was measured using a commercial enzyme immunoassay (ELISA).

Results. The heterogeneity in HER2/NEU expression in tissue and concentrations of circulating marker in tumor effusions of individual patients were revealed. For the first time a significantly higher concentration of HER2/NEU in tumor effusions than in patients sera was shown. The high expression of this oncoprotein on tissue level was accompanied by elevation of circulating receptor concentration in cyst and ascitic fluids in comparison to the sera of the same patients.

Conclusions. The overexpression and high concentration of HER2/NEU in tumor effusions permit to select the subgroup of patients showing more aggressive clinical course of disease (*Adv Clin Exp Med* 2005, 14, 4, 663–669).

Key words: HER2/NEU, ovarian carcinomas, tissue, serum, neoplasm fluids.

HER2/NEU (C-ERBB-2) jest protoonkogenem kodującym przezbłonowy receptor p185 HER2 dla kinazy tyrozynowej. W prawidłowych komórkach receptor HER2/NEU odgrywa kluczową rolę w kaskadzie przekazywania sygnałów wzrostowych uczestniczących w kontroli wzrostu i podziałów komórkowych [1–4].

Amplifikację genu HER2/NEU z towarzyszącą nadekspresją receptorów p185 HER2 obserwowano w różnych typach nowotworów nabłonkowych (rak gruczołu piersiowego, jajnika, płuca, żołądka, jelita grubego, nerki) i zwykle ekspresja tego receptora była ograniczona do 20–40% raków [3, 5, 6]. Najwięcej doniesień dotyczy oceny HER2/NEU w rakach gruczołu piersiowego; istnieje zgodność poglądów, że jest to czynnik determinujący zwiększoną biologiczną agresję tych nowotworów. Nadekspresja HER2/NEU jest związana z trudniejszym przebiegiem klinicznym, zwiększonym ryzykiem wystąpienia przerzutów i krótszym czasem przeżycia chorych [7–9]. Badania kliniczne wskazują na predykcyjne znaczenie oceny ekspresji HER2/NEU w komórkach raka gruczołu piersiowego w przewidywaniu odpowiedzi na leczenie systemowe [7, 10, 11].

Wykrywanie nadekspresji HER2/NEU w tkance stało się pomocne w stosowaniu przeciwciała monoklonalnego (herceptyna – trastuzumab), które blokuje przekazywanie sygnału aktywacji podziałów komórkowych i pozwala na uzyskanie remisji u 38% chorych na raka gruczołu piersiowego [12]. Obiecujące wyniki uzyskano stosując równocześnie herceptynę i cisplatynę w nawrotowych HER2/NEU dodatnich rakach gruczołu piersiowego [13].

Obecnie wiadomo również, że ocena stężenia HER2/NEU w surowicy chorych na raka gruczołu piersiowego jest pomocna we wczesnym wykrywaniu nawrotów choroby, monitorowaniu pacjentek, u których wystąpiły przerzuty, stanowi czynnik predykcyjny w hormono- i chemioterapii, pomaga w doborze i monitorowaniu chorych leczonych herceptyną [14, 15].

Znacznie mniej danych istnieje na temat znaczenia ekspresji HER2/NEU u chorych na raka jajnika [6, 16–18]. Występowanie HER2/NEU wykryto u około 30% chorych, przy czym jego obecność częściej obserwowano w zaawansowanych stadiach choroby oraz w rakach nisko zróżnicowanych. Wartość prognostyczna i predykcyjna tego markera pozostaje jednak kontrowersyjna [16–18]. Istnieją zaledwie pojedyncze doniesienia dotyczące oznaczeń stężenia tego antygenu w surowicy [19, 20], a brak jest danych na temat występowania HER2/NEU w płynach nowotworowych towarzyszących rakom jajnika.

Celem pracy było porównanie ekspresji HER2/NEU w tkankach różnych histologicznie ra-

ków jajnika ze stężeniem uwalnianego receptora do płynów nowotworowych i surowicy chorych z uwzględnieniem konwencjonalnych wskaźników klinicznych i patologicznych choroby. Analiza porównawcza zawartości HER2/NEU w tkance oraz stężenia w płynach torbieli, wysiękach i surowicy powinna umożliwić ustalenie zależności między zdolnością komórek nowotworowych do wytwarzania receptora HER2/NEU w guzie a jego uwalnianiem do płynów ustrojowych.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły tkanki, płyny torbieli i/lub wysięki otrzewnowe oraz surowice pobrane od indywidualnych chorych na nowotwory złośliwe jajnika hospitalizowanych w I Katedrze i Klinice Ginekologii Akademii Medycznej we Wrocławiu w latach 1999–2003. Ogółem zbadano 82 osoby z pierwotnie złośliwymi nowotworami jajnika, histopatologicznie rozpoznanymi jako: gruczolakotorbielakoraki typu surowiczego – 40 przypadków, raki endometrioidalne – 22 przypadki, raki śluzowe – 9 przypadków i raki niezróżnicowane – 11 przypadków. Stopień histologicznego zróżnicowania nowotworu określono jako G1 w 20 przypadkach, G2 – w 28, a G3 – w 23 przypadkach raków. 24 przypadki zakwalifikowano do I/II stadium, a 58 – do III/IV stadium klinicznego zaawansowania choroby według FIGO.

Do badań immunohistochemicznych z tkanki nowotworowej sporządzano skrawki mrożeniowe o grubości 4 μm , a komórki z płynów torbieli i wysięków zagęszczano za pomocą wirowania przy małych obrotach. Otrzymane preparaty utrwalano w zimnym acetonie. Ocenę ekspresji HER2/NEU przeprowadzano, stosując handlowy zestaw DAKO EnVision + Kit, HRP (DAB), (K 4007, DAKO; Dania) z wykorzystaniem przeciwciała monoklonalnego przeciwko ludzkiej onkoproteinie HER2/NEU (klon CB-11, Novocastra, Anglia), którego miano robocze ustalono w badaniach wstępnych na 1: 60. W mikroskopowej ocenie preparatów uwzględniano umiejscowienie, rozległość i intensywność barwienia. Za wynik dodatni przyjmowano reakcję błonową obserwowaną przynajmniej w 10% komórek nowotworowych. Nasilenie reakcji barwnej oceniano w skali półilościowej: reakcja śladowa (+), reakcja wyraźna (++) , reakcja bardzo wyraźna (+++).

Pobranie krwi przed zabiegiem chirurgicznym oraz płynów torbieli i/lub wysięków otrzewnowych podczas zabiegu operacyjnego było możliwe w 51 przypadkach. Stężenie receptora HER2/NEU oznaczono w 51 surowicach, 40 płynach wysiękowych i 20 płynach torbieli nowotworowych. Krew

obwodową oraz płyny torbieli i/lub wysięki wirovano przez 10 min w 1200 x g, a otrzymane surowice i supernatanty przechowywano do pomiarów w temperaturze -80°C . Stężenie HER2/NEU oznaczano metodą ELISA z zastosowaniem przeciwciała monoklonalnego anti-HER2/NEU (Oncogene Science; USA).

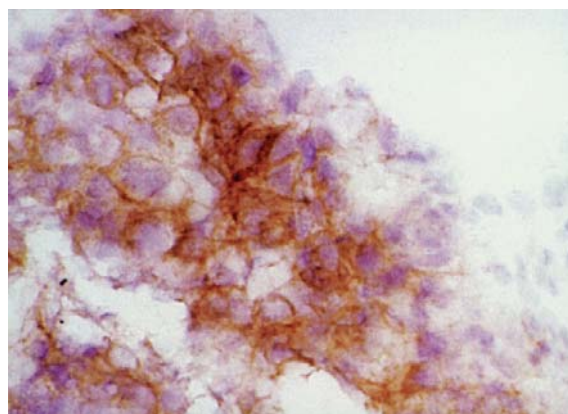
Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej. Do oceny zależności między występowaniem HER2/NEU a strukturą histologiczną i stopniem zróżnicowania nowotworu oraz klinicznym zaawansowaniem choroby według FIGO zastosowano test χ^2 , a dla porównania zależności między stężeniem HER2/NEU w surowicach i w płynach nowotworowych nieparametryczny test Wilcoxa. Za znaczące statystycznie uznawano wartości $p \leq 0,05$.

Wyniki

W tabeli 1 przedstawiono ekspresję białka HER2/NEU w rakach jajnika z uwzględnieniem struktury histologicznej, stopnia zróżnicowania nowotworu oraz stadium klinicznego zaawansowania choroby według FIGO. Występowanie onkoproteiny HER2/NEU stwierdzono ogółem w 58,5% raków. Obserwowano indywidualnie zróżnicowaną ekspresję HER2/NEU związaną zarówno z nasileniem reakcji barwnej, jak i odsetkiem dodatniej tkanki nowotworowej. Zwykle

ekspresja HER2/NEU była umiejscowiona w błonie komórek nowotworowych, przy czym często obserwowano niepełne wybarwienie tych błon (ryc. 1). Odsetek wybarwionych komórek wahał się w granicach 10–90%, przy czym średnia reaktywność wynosiła 26,5% (SD = 30,87; $n = 82$).

W nielicznych preparatach błonowej ekspresji HER2/NEU towarzyszyło słabe dyfuzyjne podbarwienie cytoplazmy, którego nie uwzględniano przy określaniu odsetka reaktywnej tkanki nowotworowej. Najsilniejsze odczyny barwne obserwo-



Ryc. 1. Błonowa nadekspresja onkoproteiny HER2/NEU w raku jajnika typu endometrioidalnego (metoda immunoperoxydazowa; $\times 200$)

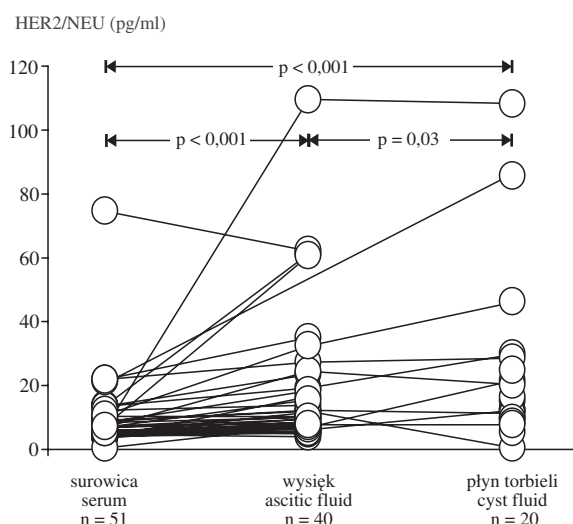
Fig. 1. Membrane overexpression of HER2/NEU oncoprotein in endometrioid ovarian carcinoma (immunoperoxidase method; $\times 200$)

Tabela 1. Ekspresja onkoproteiny HER2/NEU w rakach jajnika

Table 1. Expression of HER2/NEU oncoprotein in ovarian carcinomas

Wskaźniki (Parameters)	Liczba przypadków (Number of cases)	HER2/NEU-dodatnie (HER2/NEU-positive) %
Typ histologiczny: (Histological structure:)		
Gruczołakotorbielakoraki surowicze (Serous cystadenocarcinomas)	40	25 (52,0)
Gruczołakotorbielakoraki endometrioidalne (Endometrioid cystadenocarcinomas)	22	14 (63,6)
Gruczołakotorbielakoraki śluzowe (Mucinous cystadenocarcinomas)	9	6 (66,7)
Raki niezróżnicowane (Undifferentiated carcinomas)	11	3 (27,3)
Stopień zróżnicowania (Grade of differentiation)		
G1	20	9 (45,0)
G2	28	19 (67,8)
G3	23	17 (73,9)
Stadium klinicznego zaawansowania według FIGO: (Clinical stage of disease – FIGO)		
I/II	24	11 (45,8)
III/IV	58	37 (63,8)
Ogółem (Total)	82	48 (58,5)

wano zwykle w komórkach tworzących cewy gruczołowe. Niezależnie od struktury histologicznej w 19 rakach stwierdzono słabe nasilenie reakcji (+) i mały odsetek reaktywnych komórek (10–30%). Silniejszym odczynem immunohistochemicznym w 17 przypadkach ocenionym na ++,



Ryc. 2. Porównanie stężenia HER2/NEU w surowicy, płynie torbieli i/lub wysięku indywidualnych chorych na raka jajnika

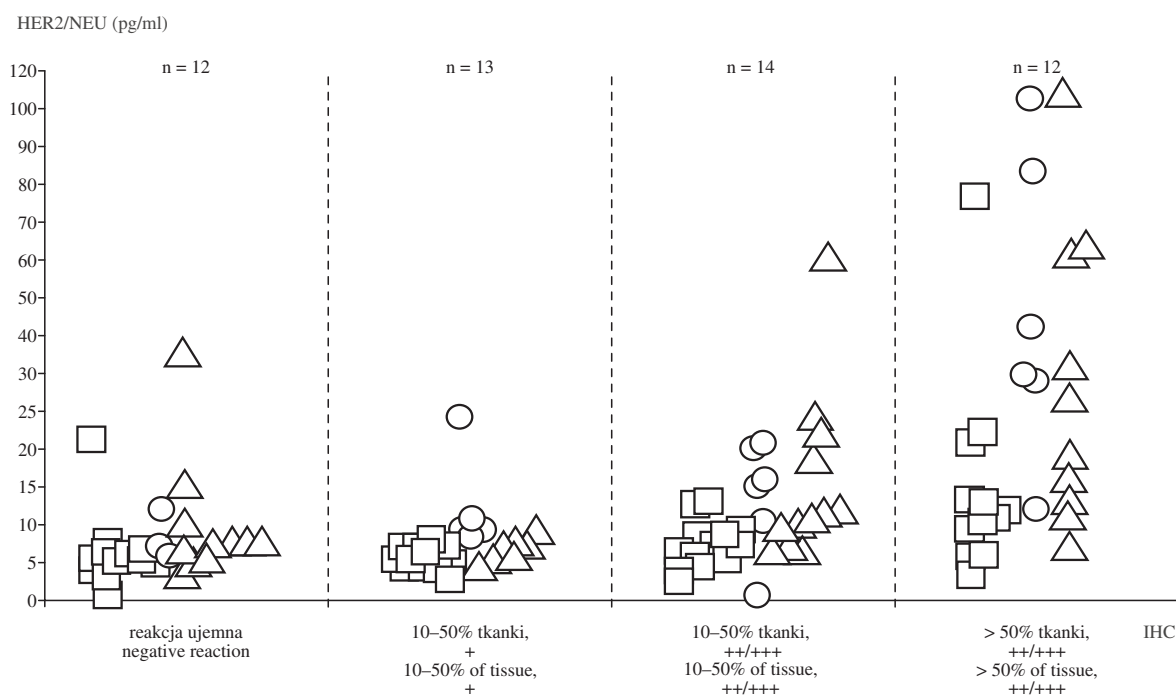
Fig. 2. Comparison of HER2/NEU concentration in serum, cyst fluid and/or ascitic fluid from individual patients with ovarian carcinoma

a w 12 na +++, towarzyszył zwykle większy odsetek dodatnich komórek (40–90%).

Jak wynika z tabeli 1, nie stwierdzono istotnych statystycznie zależności między ekspresją HER2/NEU a typem histologicznym, stopniem zróżnicowania nowotworu i stadiem klinicznego zaawansowania choroby. Odsetek przypadków, wykazujących zarówno wykrywalną obecność HER2/NEU, jak i większą intensywność reakcji, był jednak wyraźnie większy w III/IV stadium (63,8%) aniżeli w I/II (45,8%) stadium choroby według FIGO.

Rycina 2 przedstawia porównanie stężenia HER2/NEU w surowicy, płynie torbieli i/lub wysięku u indywidualnych pacjentek z rakiem jajnika. Jak wynika z ryciny 2, stężenie HER2/NEU było istotnie mniejsze w surowicach aniżeli w badanych porównawczo płynach nowotworowych tych samych chorych ($p < 0,001$). Stężenia HER2/NEU w surowicach mieściły się w zakresie 0,3–74,6 pg/ml (mediana 6,4); w płynach torbieli w zakresie 0,4–108,1 pg/ml (mediana 13,65); w wysiękach nowotworowych w zakresie 3,7–109,6 pg/ml (mediana 9,65).

Rycina 3 przedstawia zależności między stopniem ekspresji HER2/NEU w tkance a stężeniem tego receptora w surowicy i płynach nowotworowych u poszczególnych chorych na raka jajnika. Uwzględniając odsetek dodatnio reagującej powierzchni tkanki i stopień nasilenia reakcji barw-



Ryc. 3. Zależności między ekspresją HER2/NEU w tkance a stężeniem w surowicy (O), płynie torbieli (□) i wysięku (△) u indywidualnych chorych na raka jajnika

Fig. 3. Relations between HER2/NEU expression in tissue and concentration in serum (O), cyst fluid (□) and ascitic fluid (△) in individual patients with ovarian carcinoma

nej, wyodrębniono 4 podgrupy chorych. Jak wynika z ryciny, w większości przypadków stężenie HER2/NEU w surowicy nie przekraczało 15 pg/ml, niezależnie od ekspresji receptora na poziomie tkanki. Stężenia HER2/NEU, przekraczające tę wartość, stwierdzono w płynach torbieli i/lub wysiękach u 7 z 12 pacjentek zakwalifikowanych do podgrupy czwartej, wykazujących również silną reakcję immunohistochemiczną (++)/+++), obejmującą co najmniej 50% komórek. Należy podkreślić, że w tej podgrupie chorych zwiększenie stężenia HER2/NEU w surowicy powyżej 15 pg/ml zanotowano jedynie w 3 przypadkach.

Mimo stosunkowo krótkiego okresu obserwacji, 7 chorych tej podgrupy zmarło w okresie 0,5–25 miesięcy. Wśród pozostałych 5 chorych, u których, mimo wyraźnej reakcji tkankowej, nie wykazano w płynach nowotworowych wzrostu stężenia HER2/NEU powyżej 15 pg/ml zanotowano, jak dotychczas 3 zgony, przy czym czas całkowitego przeżycia przekraczał 40 miesięcy.

Omówienie

Mimo uznanej wartości klinicznej analizy ekspresji HER2/NEU w tkance i stężenia w surowicy chorych na raka gruczołu piersiowego [14, 15], istnieją tylko pojedyncze doniesienia oceniające ten antygen w tkance i surowicy chorych na nabłonkowe raki jajnika [19, 20]. Brak jest informacji dotyczących pomiarów stężenia HER2/NEU w płynach nowotworowych u tych pacjentów. Porównanie ekspresji HER2/NEU w tkankach różnych histologicznie raków jajnika ze stężeniem uwalnianego receptora do płynów nowotworowych i surowicy chorych dostarcza wartościowych informacji, wyjaśniających mechanizmy uwalniania antygenu z miejsca jego wytwarzania w guzie nowotworowym do krążenia chorego [21].

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały znaczną heterogenność w ekspresji zarówno tkankowego, jak i krążącego HER2/NEU u chorych na raka jajnika. Mimo większego odsetka dodatnich przypadków i większej intensywności reakcji u pacjentów w III/IV stadium raka w porównaniu z chorymi w I/II stadium zaawansowania choroby, nie wykazano istotnych zależności między obecnością HER2/NEU w badanej tkance a typem histologicznym, stopniem zróżnicowania nowotworu i stadium klinicznego zaawansowania choroby według FIGO. Obserwacje te są zgodne zarówno z własnymi wcześniejszymi wynikami [17, 18], jak i doniesieniami innych autorów [22, 23].

W przeprowadzonych badaniach własnych po raz pierwszy wykazano istotnie większe stężenia HER2/NEU w płynach nowotworowych aniżeli

w surowicy chorych, przy czym ekspresja tego antygenu na poziomie tkanki silniej korelowała ze stężeniem krążącego receptora w płynach torbieli i wysiękach w porównaniu z surowicami tych samych chorych. Na podstawie wyników wyodrębniono podgrupy badanych pacjentek, uwzględniając stopień ekspresji HER2/NEU, nasilenie reakcji immunohistochemicznej oraz stężenie krążącego receptora zarówno w surowicy, jak i płynach nowotworowych. Największe stężenia HER2/NEU w płynach torbieli i wysiękach, przekraczające 15 pg/ml, stwierdzono w podgrupie wykazującej intensywną, dotyczącą co najmniej 50% komórek, reakcję błonową. Pacjentki zaliczone do tej podgrupy charakteryzowały się znacznie krótszym czasem całkowitego przeżycia (poniżej 25 miesięcy) niż chore, u których stwierdzano dużą reaktywność tkankową przy stężeniach HER2/NEU w płynach ustrojowych nieprzekraczających 15 pg/ml (całkowity czas przeżycia powyżej 40 miesięcy). Interesująca wydaje się obserwacja, że tylko w pojedynczych przypadkach dużym stężeniom HER2/NEU w płynach nowotworowych towarzyszyło jednocześnie zwiększenie stężenia tego markera w surowicy. Brak danych, uwzględniających równoległe pomiary nadekspresji HER2/NEU w tkankach i stężeń tego receptora w płynach nowotworowych u chorych na raka jajnika, uniemożliwia porównanie wyników własnych z obserwacjami innych autorów.

Najwięcej doniesień, w których podejmowano próby wyjaśnienia zależności między dużym stężeniem HER2/NEU w surowicy a złą prognozą i odległymi przerzutami, dotyczy raka gruczołu piersiowego [21, 24].

Baselga [21] uważa, że zewnątrzkomórkowa domena HER2/NEU, która pełni rolę ochronną zapobiegającą spontanicznej aktywacji kinazy tyrozynowej w domenie wewnątrzkomórkowej, może być uwalniana drogą proteolitycznego rozszczepienia receptora HER2/NEU i wykrywana w surowicy chorych jako ECD/HER2/NEU (*extra cellular domain HER2/NEU*). Pozostały, określany jako HER2/NEU p95, związany z komórką fragment receptora, zawiera domenę o aktywności kinazy tyrozynowej z przetrwałą zdolnością transmisji sygnałowej.

Opisywane w rakach gruczołu piersiowego [21] rozbieżności między wysokimi stężeniami krążącego HER2/NEU wobec braku wykrywalnej nadekspresji tkankowej i dużej ekspresji tkankowej receptora przy małych stężeniach w surowicy mogą być wynikiem różnych procesów regulacyjnych, uczestniczących w rozszczepianiu cząsteczki HER2/NEU [21, 25]. Zgodnie z ostatnimi poglądami, rozszczepianie HER2/NEU jest aktywowane przez działanie różnych mechanizmów, włą-

czając metaloproteinazy [21, 25]. Wydaje się, że różny poziom aktywacji maszynierii uczestniczącej w rozszczepianiu i uwalnianiu zewnątrzkomórkowego fragmentu HER2/NEU może wyjaśniać różne stężenia krążącego receptora przy porównywalnej ekspresji tkankowej. Znalazło to pośrednio potwierdzenie w wynikach badań Moliny et al. [26], którzy wykazali w rakach gruczołu piersiowego fosforylację domeny wewnątrzkomórkowej po uwolnieniu części zewnętrznej receptora, oraz doniesieniami innych badaczy, obserwujących zjawisko aktywacji kinazy tyrozynowej w HER2/NEU dodatnich hodowlach komórkowych [26–30].

Znajomość mechanizmów i znaczenia rozszczepiania HER2/NEU dostarcza nowych możliwości terapeutycznych. Wiadomo, że stosowanie przeciwciał monoklonalnych (herceptyna) powoduje bezpośrednie hamowanie procesu rozszczepiania HER2/NEU [26], podczas gdy wprowadzenie inhibitorów metaloproteinaz lub inhibitorów kinazy tyrozynowej powinno zapobiegać odsłonięciu domeny wewnątrzkomórkowej, przeciwdziałając wzmożonej aktywności sygnałowej [21, 25].

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że ocena stężenia HER2/NEU w płynach torbieli i wysiękach istniejących w rakach jajnika stanowi lepszy wskaźnik do analizy zależności między zdolnością do uwalniania zewnątrzkomórkowego fragmentu tego receptora a stopniem biologicznej agresji nowotworu aniżeli oznaczanie stężenia HER2/NEU w surowicy chorych. Wykazano również, że występowanie nowotworów z dużą zdolnością rozszczepiania i uwalniania HER2/NEU umożliwia wyodrębnienie podgrupy chorych z silną nadekspresją i wysokim stężeniem tego receptora w płynach nowotworowych oraz definiuje bardziej agresywny przebieg choroby. Wydaje się bardzo prawdopodobne, że podgrupa ta będzie wymagała celowanej terapii z zastosowaniem herceptyny lub inhibitorów metaloproteinaz, albo inhibitorów kinazy tyrozynowej. Uznanie krążącego HER2/NEU jako biologicznego wskaźnika odrębnej podgrupy HER2/NEU – dodatnich raków jajnika – wymaga jednak zwiększenia liczebności i dłuższego czasu obserwacji takich przypadków.

Piśmiennictwo

- [1] **Weiner T, Cance WG:** Molecular mechanisms involved in tumorigenesis and their surgical implication. *Am J Surg* 1994, 167, 428–433.
- [2] **Earp HS, Dawson TL, Li X, Yu H:** Heterodimerization and functional interaction between EGF receptor family members: a new signaling paradigm with implications for breast cancer research. *Breast Cancer Res Treat* 1995, 35, 115–132.
- [3] **Alroy J, Yarden Y:** The ErbB signaling network in embryogenesis and oncogenesis: signal diversification through combinatorial ligand-receptor interactions. *FEBS Letters* 1997, 410 (1), 83–86.
- [4] **Tzahar E, Waterman H, Chen X, Levkowitz G, Karunagaran D, Lavi S, Ratzkin BJ, Yarden Y:** A hierarchical network of interreceptor interactions determines signal transduction by neu differentiation factor/neuregulin and epidermal growth factor. *Mol Cell Biol* 1996, 16, 5276–5287.
- [5] **Ross JS, Fletcher JA:** The *HER2/NEU* oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor and target for therapy. *Stem Cells* 1998, 16, 413–428.
- [6] **Ross JS, Yang F, Kallakury BV, Sheehan CE, Ambros RA, Muraca PJ:** *HER2/NEU* oncogene amplification by fluorescence in situ hybridization in epithelial tumors of the ovary. *Am J Clin Pathol* 1999, 111, 311–316.
- [7] **Gusterson BA, Gelber RD, Goldhirsch KN:** Prognostic importance of c-erbB-2 expression in breast cancer. *J Clin Oncol* 1992, 10, 1049–1056.
- [8] **Hartmann LC, Ingle JN, Wold LE, Farr GH Jr, Grill JP, Su JQ, Maihle NJ, Krook JE, Witzig TE, Roche PC:** Prognostic value of c-erbB-2 overexpression in axillary lymph node-positive breast cancer. Results from a randomized adjuvant treatment protocol. *Cancer* 1994, 74, 2956–2963.
- [9] **Seshadri R, Firgaira FA, Horsfall DJ, McCaul K, Setlur V, Kitchen P:** Clinical significance of *HER2/NEU* oncogene amplification in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 1993, 11, 1936–1942.
- [10] **Bianchi S, Paglierani M, Zampi G, Cardona G, Cataliotti L, Bonardi R, Ciatto S:** Prognostic significance of c-erbB-2 expression in node negative breast cancer. *Br J Cancer* 1993, 67, 625–629.
- [11] **Muss HB, Thor AD, Berry DA, Kute T, Liu ET, Koerner F, Cirrincione CT, Budman DR, Wood WC, Barcos M:** C-erbB-2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *N Engl J Med* 1994, 330, 1260–1266.
- [12] **Tsongalis GJ, Ricci AJr:** HER2: The new prognostic marker for breast cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2001, 38, 167–182.
- [13] **Pegram MD, Lipton A, Hayes DF, Weber BL, Baselga JM, Tripathy D, Baly D, Baughman SA, Twaddell T, Glaspy JA, Slamon DJ:** Phase II study of receptor-enhanced chemosensitivity using recombinant humanized anti-p185^{HER2/NEU} monoclonal antibody plus cisplatin in patients with HER2/NEU overexpressing metastatic breast cancer refractory to chemotherapy treatment. *J Clin Oncol* 1998, 16, 2659–2671.
- [14] **Schwarz MK, Smith C, Schwarz DC, Dnistrian A, Neiman I:** Monitoring therapy by serum HER2/NEU. *Int J Biol Markers* 2000, 15, 324–329.

- [15] Yamauchi H, Stearns V, Hayes DF: When is a tumor marker ready for prime time? A case study of c-erbB-2 as a predictive factor in breast cancer. *J Clin Oncol* 2001, 9, 2334–2356.
- [16] Meden H, Kuhn W: Overexpression of the oncogene *c-erbB-2* (*HER2/neu*) in ovarian cancer: a new prognostic factor. *Eur J Obstet Gynecol Rep Biol* 1997, 71, 173–179.
- [17] Harłodzińska A, Bar JK, Sobańska E, Goluda M: p53, c-erbB-2 and p21^{ras} expression in tumor effusion cells of patients with histopathologically different ovarian neoplasms. *Anticancer Res* 1997, 17, 3545–3552.
- [18] Harłodzińska A, Bar JK, Sobańska E, Goluda M: Epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 oncoproteins in tissue and tumor effusion cells of histopathologically different ovarian neoplasms. *Tumor Biol* 1998, 19, 364–373.
- [19] Yazici H, Dolapcioglu K, Buyru F, Dalay N: Utility of c-erbB-2 expression in tissue and sera of ovarian cancer patients. *Cancer Invest* 2000, 18, 110–114.
- [20] Mabrouk RA, Ali-Labib R: Detection of urokinase plasminogen activator receptor and c-erbB-2 in sera of patients with breast and ovarian carcinoma. *Clin Biochem* 2003, 36, 537–543.
- [21] Baselga J: Is circulating HER-2 more than just a tumor marker? *Clin Cancer Res* 2003, 7, 2605–2607.
- [22] Hengstler JG, Lange J, Kett A, Dornhöfer N, Meinert R, Arand M, Knapstein PG, Becker R, Oesch F, Tanner B: Contribution of *c-erbB-2* and topoisomerase II α to chemoresistance in ovarian cancer. *Cancer Res* 1999, 59, 3206–3214.
- [23] Meden H, Marx D, Roegglen T, Schaner A, Kuhn W: Overexpression of the oncogene c-erbB-2 (*HER2/neu*) and response to chemotherapy in patients with ovarian cancer. *Int J Gynecol Pathol* 1998, 17, 61–65.
- [24] Hayes DF, Yamauchi H, Broadwater G, Cirrincione CT, Rodrigue SP, Berry DA, Younger J, Panasci LL, Millard F, Duggan DB, Norton L, Henderson IC: Circulating HER-2 extra cellular domain (ECD/*HER-2*) as a prognostic factor in patients with metastatic breast cancer: Cancer & Leukemia Group B study 8862. *Clin Cancer Res* 2001, 7, 2703–2711.
- [25] Roskoski J Jr: The ErbB/*HER* receptor protein-tyrosine kinases and cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2004, 319, 1–11.
- [26] Molina MA, Codony-Servat J, Albanell J, Rojo F, Arribas J, Baselga J: Trastuzumab (herceptin), a humanized anti-*HER-2* receptor monoclonal antibody, inhibits basal and activated *HER-2* ectodomain cleavage in breast cancer cells. *Cancer Res* 2001, 61, 4744–4749.
- [27] Segatto O, King CR, Pierce JH, Di Fiore PP, Aaronson SA: Different structural alterations upregulate *in vivo* tyrosine kinase activity and transforming potency of the *erbB-2* gene. *Mol Cell Biol* 1988, 8, 5570–5574.
- [28] Lin YL, Clinton GM: A soluble protein related to the *HER-2* proto-oncogene product is released from human breast carcinoma cells. *Oncogene* 1991, 6, 639–643.
- [29] Christianson TA, Doherty JK, Lin YJ, Ramsey EE, Holmes R, Keenan EJ, Clinton GM: NH₂-terminally truncated *HER2/NEU* protein: relationship with shedding of the extracellular domain and with prognostic factors in breast cancer. *Cancer Res* 1998, 15, 5123–5129.
- [30] Codony-Servat J, Albanell J, Lopez-Talavera JC, Arribas J, Baselga J: Cleavage of the *HER-2* ectodomain is a pervanadate-activable process that is inhibited by the tissue inhibitor of metalloproteases-1 in breast cancer cells. *Cancer Res* 1999, 59, 1196–1201.

Adres do korespondencji:

Paweł Sedlaczek
Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej AM
ul. J. Mikulicza-Radeckiego 7
50-368 Wrocław

Praca wpłynęła do Redakcji: 13.12.2004 r.

Po recenzji: 26.01.2005 r.

Zaakceptowano do druku: 26.01.2005 r.

Received: 13.12.2004

Revised: 26.01.2005

Accepted: 26.01.2005