

D. 5024



Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce

**PROGNOSTICKÉ A PREDIKTIVNÍ BIOCHEMICKÉ FAKTORY U KARCINOMU
PRSU- DIAGNOSTIKA A ÚČINEK**

MUDr. Olga Přibyllová

Praha 2008

Doktorské studijní programy v biomedicině

*Univerzita Karlova v Praze
a Akademie věd České republiky*

Obor:biochemie a patobiochemie

Předseda oborové rady:prof. MUDr. Jiří Kraml, DrSc

Školící pracoviště:ÚKBLD VFN a 1. LF UK

Autor:MUDr. Olga Přebilová

Školitel:prof. MUDr. Tomáš Zima DrSc., MBA

Školitel konsultant (byl – li):

Oponenti:

.....prof. MUDr. Richard Průša CSc
.....doc. MUDr. Jindřich Finek, PhD

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba se koná dne: v hod.
kde

S disertací je možno se seznámit na děkanátě 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze

Obsah

1. Souhrn.....	4
2. Summary.....	5
3. Úvod do problematiky	6
4. Cíle práce.....	9
5. Materiál a metody.....	9
6. Výsledky.....	11
7. Diskuze.....	13
8. Závěr.....	19
9. Seznam použité literatury.....	20
10. Přílohy.....	27

Souhrn

Cílená a individualizovaná léčba je posledním trendem v léčbě karcinomu prsu. Musí nutně zohledňovat efektivitu a pravděpodobný přínos pro každou jednotlivou nemocnou.

Cílem naší práce bylo zjistit, zda i u postmenopauzálních nemocných ovlivňuje chemoterapie hladiny estradiolu, progesteronu, LH, FSH a rovněž IGF-1 a IGFBP-3 v séru.

Vzorky krve jsme odebrali 72 nemocným před zahájením adjuvantní terapie, v jejím průběhu a po ukončení léčby. Nenalezli jsme statisticky signifikantní závislost změn sérových hladin sledovaných parametrů na stadiu onemocnění, expresi hormonálních receptorů a HER-2 ani na použité kombinaci cytostatik. Rovněž jsme neprokázali závislost zjištěných změn na věku, doby trvání menopauzy ani množství tělesného tuku.

Sérové hladiny LH, FSH a progesteronu byly statisticky významně nižší v průběhu léčby v porovnání s hodnotami před jejím zahájením. Statisticky významný rozdíl mezi hladinou výchozí a po ukončení terapie byl zjištěn pouze u estradiolu. Hladina estradiolu je však z hlediska možného hormonálního vlivu na nádorové buňky nejdůležitější. Hladiny IGF-1 neprokázaly žádnou změnu v závislosti na terapii.

Vyšetřením sérových hladin ECD HER-2, s použitím BAYER Advia Centaur System, a porovnáním s tkáňovou expresí HER-2, s využitím DAKO Herceptestu, jsme našli statisticky významnou shodu těchto parametrů.

Z našich výsledků vyvozujeme, že i u postmenopauzálních žen s karcinomem prsu léčených chemoterapií dochází k hormonálním změnám, které se mohou pozitivně podílet na celkovém výsledku léčby.

Stanovení sérových hladin ECD HER-2 je využitelné k orientačnímu stanovení exprese HER-2 v nádorových buňkách v případech, kdy není k dispozici tkáň k imunohistochemickému a FISH testování a v případě generalizace nemoci, kdy exprese může být odlišná od nálezu v primárním nádorovém ložisku.

Summary

The aim of this project was to find out whether also in postmenopausal women chemotherapy can affect hormonal levels in serum and if also levels of IGF-1 and IGFBP-3 change. In the group of 72 postmenopausal breast cancer patients blood samples were taken before, during and after adjuvant chemotherapy and levels of estradiol, progesterone, LH, FSH, IGF-1 and IGFBP-3 were evaluated. Significant differences in all parameters were found except IGF-1. There was not any statistical dependence on the menopausal gap, age, weight or type of chemotherapy.

We explored the relationship between circulating HER-2 extracellular domain and tissue HER-2 status in a group of 42 postmenopausal breast cancer patient.

All patients were examined before adjuvant chemotherapy or other adjuvant treatment. Serum levels were measured by BAYER Advia Centaur System (cut off level is in our conditions considered at 12 ng/ml). Tissue expression was assayed with the DAKO Company Herceptest.

We can conclude that also in postmenopausal women hormonal changes can take part in the final effect of adjuvant treatment.

Serum levels are in consonance with tissue expression. That could be important in metastatic breast cancer, when is impossible to get a new tumour sample and establish the actual HER-2 status, which may be different from the primary tumour.

However we know, that serum HER-2 concentration cannot substituted for IHC or FISH, we have seen a statistical significant correlation between serum level concentration and tissue HER-2 status.

1. Úvod do problematiky

Karcinom prsu vzniká z epitelu ductů a lobulů mléčné žlázy. Je řazen mezi hormonálně dependentní nádory, kancerogenní účinky se přisuzují především estrogenům. Kromě estrogenů jsou buňky karcinomu prsu na stimulovány k proliferaci různými růstovými faktory a cytokiny- EGF, IGF, PDGF, VEGF (Sachdev 2001).

Diagnóza onemocnění je založena na klinickém vyšetření, zobrazovacích metodách a vyšetření tkáně nádoru mikroskopicky a imunohistochemicky. Doplnující jsou vyšetření biochemická (nádorové markery), speciální molekulárně biologická vyšetření receptorů pro růstové faktory a vyšetření genetické.

Diagnóza karcinomu prsu s sebou přináší četná dilemata jak pro nemocnou, tak pro lékaře. Musíme zvážit efektivitu všech dostupných léčebných modalit, vhodnost použití pro konkrétní nemocnou a uvážit pravděpodobný benefit zvolené metody a jejich vzájemné kombinace a sledu. Rozdíly v přežívání nemocných jsou nepochybným důsledkem rozdílů v invazivitě nádorů, jejich růstového a metastatického potenciálu a jiných vlastností a regulačních mechanismů, které nejsou dosud plně objasněny.

Pro optimalizaci terapeutického postupu vhodného pro danou nemocnou byla stanovena celá řada měřitelných faktorů, zjistitelných v době diagnózy, tzv. **prognostických a prediktivních faktorů**. Na jejich podkladě je možné odhadnout délku přežití a efektivitu různých léčebných modalit. Jednoznačný vztah k době přežití má klinické stadium nemoci, určené mezinárodním systémem klasifikace TNM, založeném na posouzení velikosti nádoru, postižení regionálních lymfatických uzlin a případné přítomnosti nádorových metastáz. Věk a ovariální funkce mají význam pro volbu metody terapie, zejména hormonální léčby.

Expresí estrogenních receptorů (ER) je jedním z nejvýznamnějších biomarkerů (Clark 2000). Jasným důkazem toho jsou výsledky léčby založené na inhibici funkce estrogenních receptorů či omezení produkce estrogenů. Nádory s negativními receptory nemají schopnost odpovídat na regulaci hormonů a hormonální terapii a mají zpravidla nižší stupeň diferenciaci a též větší proliferativní aktivitu.

Receptory HER-2 při zvýšené expresi znamenají horší prognózu. Jejich pozitivita je obvykle provázána negativitou ER. Jsou doposud jediným prediktivním faktorem pro terapii trastuzumabem.

Histologický typ nádoru prognózu ovlivňuje méně, pro predikci léčebné odpovědi má rovněž omezený význam. Větší váhu v tomto ohledu má stupeň vyzrálosti nádorových buněk (G). Čím méně jsou buňky diferencovány, tím je prognóza nemoci horší.

Lymfovaskulární invaze nádoru svědčí o jeho časném pronikání do cirkulačního systému a zakládá předpoklad časného metastazování a tím i horší prognózy.

Dále se posuzuje délka anamnézy a tím i rychlost růstu nádoru, přítomnost nádorových markerů, přítomnost minimální residuální choroby v kostní dřeni.

Na regulaci růstu buněk karcinomu prsu se podílí celá řada stimulačních i inhibičních faktorů, působících prostřednictvím receptorů charakteru tyrosinových kináz na membráně buněk i v jádře a celý proces je velmi složitý a doposud ne zcela objasněný. Existuje pravděpodobně celá řada mechanismů zkřížené aktivace cest přenosu informace.

Estrogeny mají jednoznačně stimulační vliv na buňky prsní tkáně. Jsou odpovědné za rozvoj ductálního systému v období puberty a společně s progesteronem ovlivňují rozvoj lobulů žlázy. Exogenní hormonální působení, jako aplikace hormonální substituční léčby v menopauze, riziko vzniku karcinomu prsu rovněž zvyšuje (Parkin 2001).

Nejúčinnější endogenní estrogen je estradiol, produkovaný hlavně vaječnicí v premenopauzálním období. V postmenopauze je většina cirkulujícího estrogenu tvořena z estronu, vznikajícího periferní transformací androstendionu především v nadledvinách. Veškeré steroidní hormony vznikají přeměnou cholesterolu. V ovariích se na regulaci tvorby podílí luteinizační hormon (LH). Estrogenní a progesteronové receptory jsou prediktivním faktorem i terapeutickým cílem.

Epidermální růstové faktory ovlivňují aktivitu, morfologii a přežívání buněk karcinomu prsu prostřednictvím celé rodiny receptorů (EGFR) charakteru tyrosinových kináz na membráně buněk (Yarden 2001, Jorissen 2003). Skupina epidermálních růstových faktorů se podle vazebných specifik jejich receptorů dělí na 4 podskupiny – HER-1, HER-2, HER-3 a HER-4. Předpokládá se, že vazba specifického ligandu vede k dimerizaci, aktivaci intracelulárních transdukčních mechanismů a zkřížené fosforylaci receptorů (Osborne 2007). Overexpresí HER-2 vede ke zvýšené tumorogenicitě, invazivitě, zvýšenému metastatickému potenciálu, inhibici apoptozy a alterované citlivosti k hormonálním a cytostatickým preparátům (Perez 2006).

Existuje mnoho cest vzájemného ovlivnění regulace růstu nádorových buněk – vzájemné ovlivnění EGFR a ER, EGFR a IGF-1 receptoru (Gee 2005). Zkříženého vlivu má pravděpodobně za následek vznik sekundární rezistence vůči tamoxifenu.

Doposud nejvýznamnější z této rodiny je HER-2. Expres HER-2 genu je jedním z nejvýznamnějších prognostických a prediktivních faktorů u nemocných s karcinomem prsu (Nahta 2003, Nieto 2007). Je známkou horší prognózy, nižší odpovědi vůči některým cytostatikům i hormonálním lékům (Massarweh 2008), na druhé straně je cílovou strukturou pro cílenou biologickou léčbu trastuzumabem.

Pomocí specifických protilátek byl v séru nemocných karcinomem prsu identifikován tzv. **solubilní HER-2**. Jedná se o uvolněné extracelulární části receptoru – externí domény (Hayes 1989, Yamauchi 2001, Carney 2004). Jeho velikost je 105 kDa. Prevalence zvýšené hladiny ECD u primárních nádorů je 0-38 % (Kong 2006). Ve zvýšené míře bývá detekován zejména u generalizovaného karcinomu prsu, zhruba ve 20–40 % případů (Carney 1991, Yamauchi 1997). Předpokládá se, že uvolněné ECD mohou nepříznivě působit při léčbě trastuzumabem jeho neutralizací (Brodowicz 1997).

Insulinu podobné růstové faktory jsou součástí regulační cesty buněčné proliferace, transformace a metastazování karcinomu prsu (Yee 2002, Yu 2003). Nádorové buňky ovlivňují cestou autokrinní, parakrinní i endokrinní (Osborne 1990). Celý IGF systém je tvořen IGF-1, IGF-2, příslušnými receptory a nejméně šesti vazebnými proteiny (IGFBP). Vazebné proteiny IGFBP-1 a IGFBP-3 jsou spojovány s vyšší pravděpodobností lokální recidivy a metastazování nemoci (Pollak 1998, Ren 2007).

Význam signalizace IGF spočívá i v jeho zkříženém působení na estrogenní receptor, který se může podílet na zvýšené aktivitě IGF-1 (Sachdev 2001). Proces **angiogeneze** je regulován aktivací tyrosinkinázových receptorů pro které jsou známy minimálně 4 VEGF ligandy. Receptory pro VEGF mohou být rovněž terapeutickým cílem. Vlivem VEGF vznikají velmi nezralé cévy.

Vliv chemoterapie na hladiny hormonů u premenopauzálních žen

Adjuvantní léčba chemoterapií způsobuje významné změny v ovariálních funkcích. Hlavní je časná menopauza. Chemoterapií indukovaná amenorhea může být dočasná a nebo permanentní v závislosti na použité kombinaci cytostatik a věku nemocných (Bines 1996, Anderson 2006), větší pravděpodobnost je u žen nad 40 let věku (Shapiro 2001) a po tomto věku dochází vzácně k obnově ovariálních funkcí. Vznik amenorhey je vázán na poškození vývoje folikulů (Shapiro 2001). Je provázen vzestupem FSH a poklesem hladiny estrogenů (Surgeon 2004, Anjum 1991), přičemž výchozí hodnoty nemohou predikovat případný vznik menopauzy (Kutluk 2006). U nádorů s pozitivitou hormonálních receptorů je navození menopauzy vítaným vedlejším účinkem chemoterapie. Větší účinek chemoterapie u žen do

padesáti let je pravděpodobně spolupodmíněn ovlivněním hormonálních poměrů organismu vlivem chemoterapie (De Vita 2005).

2. Cíle práce

1. Zjistit, zda i u postmenopauzálních nemocných dochází vlivem chemoterapie k ovlivnění sérových koncentrací estradiolu a FSH, tedy zda i u této skupiny žen má chemoterapie současně i pozitivní vliv hormonální, jako je tomu u premenopauzálních pacientek.

2. Zjistit, zda hladina IGF-1 a IGFBP-3 koreluje s hladinami steroidních hormonů v séru a zda je ovlivněna působením chemoterapie.

3. Prokázat, zda sérové hladiny HER-2 jsou v korelaci s tkáňovou expresí. Zvýšené hladiny extracelulární domény HER-2 jsou zjišťovány u 37 % nemocných a jsou asociovány s kratším celkovým přežitím pacientek. ECD v séru může být považována za nádorový marker, vzhledem ke změnám výše hladin v závislosti na množství nádorových buněk.

3. Materiál a metody

3.1. Charakteristika souboru

Soubor nemocných je tvořen 97 postmenopauzálními pacientkami s karcinomem prsu, kterým po operačním výkonu byla indikována adjuvantní léčba.

Věk testovaných nemocných byl v rozmezí 50-84 let s medianem 59 let. Patientky měly odstup od poslední menstruace v rozmezí 2-34 let, median 12 let. Adjuvantní chemoterapie byla zvolena z důvodu negativity hormonálních receptorů či pro zjištění některého z rizikových faktorů: primární nádor větší než 3 cm, pozitivita regionálních uzlin, nízký stupeň diferenciacie nádoru (G), pozitivita HER-2.

Všechny nemocné ve skupině měly diagnostikovaný infiltruující duktální karcinom různého stupně diferenciacie - G1: 11, G2: 36 a G3: 25 nemocných.

Byly použity chemoterapeutické režimy na bázi antracyklinů.

Ve stejném souboru, avšak pouze u 42 postmenopauzálních nemocných s karcinomem prsu před zahájením léčby jsme testovali solubilní HER-2 v séru a porovnávali jeho hodnotu s tkáňovou expresí stanovenou imunohistochemicky.

3.2. Stanovení analytů

3.2.1. Odběr krve

Všem nemocným jsme odebrali první vzorek 10 ml krve před zahájením terapie, druhý po 3 cyklu chemoterapie a třetí po jejím ukončení. U nemocných s hormonální léčbou byl odebrán pouze druhý vzorek po 3 měsících užívání. Sérum bylo rozděleno do 2 alikotů, polovina byla zpracována průběžně a byly získány hodnoty luteotropního hormonu (LH), folikuly

stimulujícího hormonu (FSH), estradiolu (E), progesteronu (P), insulinu podobného růstového faktoru 1 (IGF-1) a jeho vazebného proteinu (IGFBP-3). Druhá část byla zamrazena a vzorky byly následně použity najednou pro získání hodnot cirkulujícího HER-2. Samostatně jsem provedla vyšetření metodou ELISA v těchto vzorcích.

3.2.2. Estradiol

Stanovení estradiolu jsme prováděli pomocí chemiluminiscenční mikročasticové imunoanalýzy na automatickém analyzátoru Architect firmy Abbot.

3.2.3. FSH

Stanovení FSH jsme prováděli pomocí chemiluminiscenční mikročasticové imunoanalýzy na automatickém analyzátoru Architect firmy Abbot.

3.2.4. LH

Stanovení LH se provádí chemiluminiscenční imunoanalýzou na analyzátoru ADVIA Centaur BAYER.

3.2.5. Progesteron

Progesteron se stanovuje jedнокrokovou chemiluminiscenční mikročasticovou imunoanalýzou s flexibilním metodickým postupem označovaným jako Chemiflex.

3.2.6. IGF-1

Je stanovován s využitím soupravy IGF-1 IMMUNOTECH, Francie.

Principem metody je sendvičová nekompetitivní IRMA

3.2.7. IGFBP-3

Souprava DSL, USA obsahuje dvě monoklonální protilátky proti dvěma epitopům IGFBP-3.

Principem stanovení je dvoukroková sendvičová IRMA.

3.2.8. HER-2 v séru

Pro stanovení sérových hladin cirkulujícího HER-2 jsme použili test BAYER ADVIA Centaur system. Využívá dvoustrannou sendvičovou imunoanalýzu s přímou chemiluminiscenční technologií.

3.2.9. Imunohistochemické vyšetření tkáně nádoru

3.2.9.1. HER-2 v tkáni

Tkáňová exprese HER-2 byla stanovována semikvantitativně za použití DAKO Company Herceptestu.

3.2.9.2. ER a PR v tkáni

ER a PR byly stanoveny imunohistochemicky za použití DAKO myších protilátek CLONE 1D5 a CLONE PgR 636.

3.3. Body mass index (BMI)

Hodnota vypočtená podle vzorce: váha v kg dělená výškou v metrech na druhou.

3.4. Statistické zpracování

Výsledky byly zpracovány za použití párového či nepárového t-testu a jeho neparametrické alternativy (Mann-Whitney, Wicoxon). Pro korelační analýzu byl užit Spearmanův korelační koeficient. Pro některá hodnocení jsme využili Pearsnova χ kvadrát testu.

4. Výsledky

4.1. Imunohistochemické vyšetření tkáni

U všech nemocných byla imunohistochemicky stanovena exprese HER-2. Hodnoty 0 a + jsou považovány za negativní, hodnota 3+ za pozitivní a hodnota 2+ může být při zjištění amplifikace genu metodou FISH pozitivní i negativní. Pozitivní HER-2 byl zjištěn u 23 nemocných

4.2. Porovnání vlivu terapie na hormonální hladiny

Porovnávali jsme hladiny LH, FSH, progesteronu a estradiolu před zahájením adjuvantní chemoterapie s hodnotami v průběhu léčby (po 2. nebo 3. cyklu v závislosti na použité kombinaci) a po skončení terapie. Výsledky jsou sumarizovány v tabulce 1.

Tab. 1. Analýza hormonálních hladin

	Před zahájením terapie	Během terapie	Po skončení terapie
	medián ± SD	medián ± SD	medián ± SD
LH [U/l]	31,15 ± 14,1	#27,88 ± 13,29	30,62 ± 17,24
FSH [U/l]	63,47 ± 30,48	#56,31 ± 23,14	57,6 ± 31,13
Progesteron [nmol/l]	1,62 ± 1,21	#1,34 ± 1,14	1,48 ± 1,59
Estradiol [nmol/l]	0,12 ± 0,08	0,14 ± 0,25	*0,08 ± 0,06

statisticky signifikantní ($p < 0,05$) hodnoty před léčbou versus během léčby

* statisticky signifikantní ($p < 0,05$) hodnoty během léčby versus po léčbě

Nenalezli jsme žádnou statisticky významnou závislost na stadiu onemocnění, expresi hormonálních receptorů či HER-2. Rovněž nebylo pozorováno statisticky významné ovlivnění hormonálních hladin typem použité chemoterapeutické kombinace.

Hormonální hladiny v séru před zahájením léčby v porovnání se stavem během terapie byly signifikantně odlišné v hodnotách LH, FSH a progesteronu. Tyto hormony měly v porovnání s výchozím stavem hodnotu významně nižší.

Srovnání hormonálních hladin získaných v průběhu terapie s hodnotou po léčbě vykazalo signifikantní rozdíl pouze u estradiolu – $p < 0,05$.

Tyto výsledky naznačují, že pokles LH, FSH, a progesteronu začíná již na počátku a v průběhu adjuvantní chemoterapie a v dalším období již není statisticky významný. V kontrastu s tímto je pokles hladiny estradiolu zjevný až po ukončení léčby. Tato zjištění byla potvrzena neparametrickým testem.

Vztah mezi monitorovanými parametry před a během adjuvantní léčby k chemoterapii je ze statistického hlediska pozitivní u všech hormonů, nejsilnější vazba byla identifikována u LH a FSH. Čím vyšší byla hodnota před zahájením léčby tím vyšší byly i hodnoty během terapie (pozitivní korelace).

Všechny hodnoty byly statisticky signifikantní ($p < 0,05$).

Získané hodnoty jsme porovnávali i ve vztahu k době odstupu od menopauzy. Signifikantně negativní korelace byla odhalena pouze u hladin LH a to před, během i po léčbě (Spearmanův korelační koeficient $R = -0,27$, $R = -0,35$, $R = -0,39$). To znamená, že čím delší byl odstup od menopauzy tím nižší hladina byla detekována. Slabší negativní korelace byla u FSH, kde je signifikantní závislost na době od menopauzy pouze u hodnot během a po terapii ($R = -0,38$).

U dalších sledovaných hormonů jsme nenašli žádný vztah.

U všech nemocných jsme stanovili BMI. BMI se pohyboval v rozmezí 16,65 – 40,04 s mediánem 26,3. Nadváha, tedy BMI nad 25 byla zjištěna u 40 nemocných z 97 a obezita (BMI nad 30) u 18 pacientek. Více než polovina (58) mělo BMI vyšší než norma. Pouze u 2 nemocných jsem zjistili podnormální hodnoty BMI.

Pozornost jsme věnovali i vztahu mezi hladinou hormonů a BMI nemocné. BMI negativně koreloval s hladinou progesteronu před léčbou ($R = -0,32$) a pozitivně s hladinou progesteronu po léčbě ($R = -0,56$). Hladiny progesteronu před zahájením terapie byly nižší u nemocných s větším BMI, naopak po ukončení léčby byly u těchto nemocných vyšší. Z toho vyplývá, že pokles hladiny progesteronu byl menší u nemocných s větším BMI. Korelace BMI a změny hladiny progesteronu byla signifikantně významná ($R = 0,27$).

4.3. Porovnání vlivu chemoterapie na hladiny IGF-1 a IGFBP-3

Hladiny IGF-1 nebyly v našem souboru chemoterapií statisticky signifikantně ovlivněny. Hodnoty IGFBP-3 se vlivem chemoterapie v jejím průběhu rovněž významně neměnily, k statisticky významnému vzestupu došlo až po ukončení léčby.

4.4. Porovnání tkáňové exprese HER-2 s hladinou cirkulující extracelulární domény HER-2

Všechny nemocné v našem souboru byly imunohistochemicky testovány na expresi HER-2,

estrogenních a progesteronových receptorů v tkáni nádoru. Padesát procent HER-2 pozitivních žen mělo zároveň negativní hormonální receptory ($p < 0,01$). Nízký stupeň diferenciacie nádoru, jako další negativní prognostický faktor byl zjištěn rovněž u 50 % nemocných s HER-2 +++.

Hodnoty porovnávací HER-2 v tkáni a v séru ukazuje tab. 2.

Tab. 2. Porovnání tkáňové exprese HER-2 a sérových hladin ECD

Expres HER-2 v tkáni	Počet nemocných	HER-2 Sérové hladiny (ng/ml) (interval)	průměr +/- SD
			medián
0/+	4	7,7 - 9,8	8,75 +/- 1,05 8,0
++	18	10,0 – 11,9	10,95 +/- 0,95 10,5
+++	20	12,0 - 26,8	19,4 +/- 7,4 14,5

Velmi silná statistická významnost byla nalezena v rozdílu mezi HER-2 negativními (0/+) a HER-2 pozitivními (3+) nemocnými. Při kalkulaci Studentovým T testem je $p < 0,003$.

Rovněž rozdíl mezi HER-2 nejistou pozitivitou (2+) a HER-2 pozitivními (3+) je při kalkulaci Studentovým T testem statisticky signifikantní $p < 0,01$. Metodou stanovení HER-2 v séru je tedy možné spolehlivě odlišit nemocné s pozitivitou HER-2 od nemocných s negativní expresí a nejistou expresí tohoto genu.

5. Diskuze

Vliv chemoterapie, hormonální léčby tamoxifenem i kombinace obou modalit na hladiny hormonů v séru byl studován zejména u premenopauzálních žen s karcinomem prsu (Yasumura 1990, Jordan 1991). Autoři popisují snížení hladin estradiolu, progesteronu a nesignifikantní snížení hladiny LH vlivem chemoterapie u premenopauzálních žen. Úroveň FSH nebyla chemoterapií ovlivněna. Pokud byly hodnoceny nemocné léčené tamoxifenem nebo kombinací chemoterapie a tamoxifenu byly hladiny estradiolu a progesteronu naopak vyšší a sníženy hladiny gonadotropinů. Změny ve funkci osy hypotalamus-hypofýza-ovaria jsou v léčbě premenopauzálních nemocných využívány v rámci hormonální manipulace. Vliv chemoterapie na steroidní hormony je popisován v celé řadě dalších prací (Anjum 1991,

Shapiro 1997, Anderson 2007, Bines 1996, Ejlersen 2006, Kutluk 2006, Cobleigh 1991). Všichni popisují signifikantní pokles hladiny estradiolu a navození dočasné či trvalé ovariální ablace v závislosti na věku nemocné a použité kombinaci cytostatik. Přesto bylo zjištěno, že hladina estradiolu u chemoterapií navozené menopauzy je vyšší než u spontánně vzniklé (Braveman 2006).

V práci Bhatavdekarové (Bhatavdekar 1987) je porovnáván vliv na hladiny hormonů u premenopauzálních a postmenopauzálních nemocných. U premenopauzálních žen se hladiny LH a progesteronu před a po léčbě signifikantně nelišily signifikantně však byla snížena hladina estradiolu a testosteronu. Postmenopauzální nemocné měly signifikantní vzestup LH, FSH, prolaktinu a testosteronu a naopak vzestup estradiolu a progesteronu po chemoterapii byl malý a nesignifikantní.

U postmenopauzálních žen byl podrobněji sledován vliv hormonální léčby tamoxifenem a inhibitory aromatázy na hladiny steroidních hormonů. Tamoxifen zřejmě nezpůsobuje významné ovlivnění hormonálních hladin kromě lehké elevace estradiolu (Kostoglou – Athanassiou 1997, Lonning 1995, Secreto 1983). Působení inhibitorů aromatázy se vyznačuje snížením hladiny estrogenů (Fukuda 1999).

V souladu s těmito pracemi jsme v kontrolní skupině 15 nemocných léčených tamoxifenem nepozorovali signifikantní změny v hormonálních hladinách a v kontrolní skupině 10 nemocných užívajících inhibitor aromatázy jsme shledali jednoznačný pokles hladiny estradiolu ve všech případech.

Pokles hladiny estradiolu po ukončení chemoterapie v naší skupině, potvrzený statistickou analýzou může být podmíněn účinkem cytostatik.

Tím, že jsme prokázali statistickou korelaci mezi hladinou estradiolu po léčbě a odstupem od menopauzy (čím delší odstup, tím nižší hladina byla pozorována), jeví se jako velmi pravděpodobné ovlivnění reziduální ovariální produkce cytostatiky.

Zda se na hormonálních změnách podílí i ovlivnění tvorby estradiolu v alternativních tkáních, tedy tuku, prsní žláze a dalších není jasné. V naší práci jsme prokázali pouze mírné změny v hladinách progesteronu v závislosti na BMI. Neprokázali jsme však, že nadváha ani obezita má vliv na hladinu estrogenů, jak je uváděno v některých publikacích (Lukanova 2004).

Je možné, že na poklesu hladin estradiolu se podílí snížení cirkulujícího množství FSH a LH vlivem chemoterapie.

Chemoterapie nepochybně znamená významný zásah do regulačních mechanismů produkce hormonů i u postmenopauzálních pacientek. Jaký je přesný mechanismus tohoto vlivu však

doposud nebylo jasně prokázáno.

Regulace růstu nádorových buněk prostřednictvím tyrosinkinázových receptorů a jejich ligandů je velmi složitá a doposud ne zcela dostatečně popsána. Významnou roli v regulačních pochodech zaujímá IGF-1. Má zcela zásadní úlohu ve vývoji karcinomu prsu spolu s dalšími působky IGF systému. O jeho vlivu na mitogenní aktivitu a antiapoptotickém působení podává informace celá řada prací (Sachdev 2001, Pollak 1998, Ellis 1998, Moschos 2002, Laban 2003, Furstenberger 2003), které zároveň potvrzují jeho zařazení do systému růstových hormonů. Insulinu podobné růstové faktory zaujímají významné postavení jako mediátory růstu, vývoje a přežívání buněk. Jsou syntetizovány prakticky všemi tkáněmi organismu a vytvářejí komplex molekul zahrnující jejich vazebné proteiny, proteázové systémy a receptory, které mohou modulovat jejich působení (Ellis 1998; Moschos 2002). Celý systém je v interakci s jinými komplexy, např. steroidními hormony. Možnost vzájemného ovlivňování mezi IGF systémem a estrogenními receptory popisuje řada prací (Song 2007, Westley 1998). IGF systém podporuje růst ER pozitivních nádorů prsu (Dupont 2000) a získání maligního fenotypu je ve svých počátcích rovněž vázáno na působení IGF-1 (Sarfstein 2006). Funkce IGF-1 je vázána na osu estrogen – estrogenní receptor, neboť ER je potřebný pro aktivaci IGF-1. Rovněž byla prokázána společná signální dráha pro IGF-1 a estrogeny (Hamelers 2003).

Dostupnost IGF-1 pro IGF-1 receptor je vázána na vazebné proteiny IGFBP 1-6. IGFBP-3 limituje potenciál IGF-1 vázat se na receptor. Data popsaná v literatuře poukazují na to, že růstové hormony, prolaktin, estradiol, kortizon mohou odpovídat za regulaci aktivity IGF-1. (Furstenberger, 2003, Kajdaniuk 2000).

Vliv chemoterapie na hladiny pohlavních hormonů u premenopauzálních žen je dobře znám (Kutluk 2006). Stále však je málo informací o vlivu chemoterapie na růstové faktory, které podporují růst nádorů a účastní se na progresi nemoci, tedy i IGF a jejich vazebných proteinů. V některých studiích (Peyrat 1998, Bami 1994, Bruning 1995) je popsán signifikantní pokles IGF-1 po chemoterapii, přestože jiní autoři (Favoni 1995) nepozorovali žádný pohyb v koncentracích IGF-1 vlivem chemoterapie, ale je jimi popsán vzestup IGF-1 u generalizovaného onemocnění. To podporuje teorii o působení IGF-1 na progresi nemoci. V naší práci jsme nepozorovali žádné změny v hladině IGF-1 vlivem chemoterapie v souboru postmenopauzálních nemocných. To, že vlivem chemoterapie se hladina IGF-1 a IGFBP-3 signifikantně nemění popsali i jiní (Peyrat 1998, Kajdaniuk 2000).

Role IGF-1 v patogenezi karcinomu prsu je jasná, je však ještě třeba ozřejmit vliv používané léčby na hladiny tohoto působku. Studie in vitro poukazují na možnost, že IGF-1 má

ochranný vliv proti cytostatikům na buňky nádoru prsu a brání indukované apoptóze (Dunn 1997).

Terapie antiestrogeny snižuje hladinu cirkulujícího IGF-1 snížením molárního poměru IGF-1/IGFBP-3 a zmenšuje tak jeho mitogenní potenciál (Campbell 2001, Torrisi 2001, Helle 1996). Zvýšení hladiny IGFBP-3 a současně snížení hladiny IGF-1 vlivem tamoxifenu je považováno za další možný modulační mechanismus na tkáňové úrovni (Lahti 1994, Ho 1998, Colletti 1989, Varma 2002). Některé práce prokazují vliv snížení hladiny IGFBP na rozvoj rezistence vůči tamoxifenu (McCotter 1998, Wong 2001). Působení inhibitorů aromatázy má za následek zvýšení hladiny IGF-1 u postmenopauzálních žen, hladina IGFBP-3 zůstává nezměněna (Ferrari 2002) nebo se zvyšuje (Frost 1996).

V našem souboru jsme nepozorovali významnou změnu vzájemného poměru IGF-1 a IGFBP-3 v žádné skupině, tedy ani vlivem chemoterapie, ani vlivem tamoxifenu či inhibitorů aromatáz.

Nenalezli jsme žádný statisticky signifikantní vztah ani ke hladinám jiných sledovaných hormonů.

V poslední době je věnována vzrůstající pozornost i možnému vlivu IGF-1 na rozvoj rezistence vůči léčbě tamoxifenem, inhibitorům aromatázy a trastuzumabem (Laban 2003, Lu 2001, Lonning 1995). In vitro bylo pozorováno, že IGF-1 stimuluje periferní aromatázu a vede tak ke zvýšené produkci estradiolu.

Rezistenci vůči tamoxifenu způsobuje i zvýšená exprese HER-2. Inhibicí HER-2 bylo dosaženo odstranění rezistence k tamoxifenu. Zároveň bylo zjištěno, že u tamoxifen rezistentních nádorů je současně zvýšená hladina IGF-1, který je schopen reagovat jak s HER-2 receptorem tak i a vazebnými místy pro estrogen (Massarweh 2008). I další práce potvrzují vzájemné ovlivňování receptorů (Todorovic-Rakovic 2006, Dowset 2008).

V poslední době se stále množí důkazy o vzájemném propojení všech regulačních systémů u karcinomu prsu. Některé práce (Riedemann 2007) prokazují, že aktivace IGF-1 receptoru má za následek rezistenci receptorů pro epidermální růstové faktory vůči jejich inhibitorům. In vitro bylo prokázáno, že dochází k heterodimerizaci mezi receptorem pro IGF-1 a HER-2 a tak je způsobena rezistence vůči trastuzumabu. Všechna tato pozorování vedou k úvahám o nutnosti léčby, která by současně postihla více cílových struktur a bylo tak dosaženo maximální efektivity a zlepšení celkových výsledků léčby.

Cílem terapie je v současné době zejména estrogení receptor a receptor pro HER-2.

Možností stanovení HER-2 je několik s různou validitou pro rozhodování terapie.

Nejpřesnější je metoda stanovení pomocí FISH, méně přesná je imunohistochemie. Řada

autorů našla korelaci mezi hladinou cirkulující extracelulární domény HER-2 (ECD) a FISH stanovenou tkáňovou hladinou (Carney 2004; Schippinger 2004; Perez 2006).

Monitorování ECD hladin v séru je snadno opakovatelná metoda a umožňuje sledování vývoje hladin ECD v čase pod vlivem terapeutických postupů a navíc umožňuje stanovení okamžité hodnoty HER-2 stavu.

Měřením cirkulující ECD pomocí ELISA metod byla zjištěna prevalence zvýšených hladin u 18,1 % žen s primárním karcinomem prsu a u 45,6 % nemocných s generalizovaným onemocněním (Hayes 2001). Tento fakt může podpořit stanovování ECD v průběhu onemocnění, neboť cílená a velmi účinná terapie trastuzumabem je indikována na podkladě iniciační tkáňové exprese v primárním nádoru, přičemž exprese respektive amplifikace genu pro HER-2 v metastázách může být odlišná. V soulase s tím jsou publikace uvádějící negativitu HER-2 v primárním nádoru a jeho pozitivitu v metastázách karcinomu prsu (El-Sawy 2002; Olsen 2007).

Vysoká koncentrace ECD HER-2 je spojována s velkou agresivitou nádoru a predikuje odpověď vůči trastuzumabu a částečně i vůči antiestrogenům a některým cytostatikům.

Další výhodou stanovování ECD v průběhu dispenzarizace je možnost, že zvýšení hladiny ECD v séru předchází klinickou manifestací relapsu a může poskytnout důležité informace pro volbu terapeutického postupu u nemocných s metastazujícím karcinomem prsu. V některých pracech je zvýšení hladiny ECD v cirkulaci komentováno jako časný příznak relapsu nemoci (Fornier 2005). Jiní autoři poukazují na korelaci výše hladiny ECD a velikosti nádoru (Brodowicz 1996).

Studium dynamiky sérových hladin ECD v průběhu kombinované chemioterapie s trastuzumabem vedly k závěru, že podle poklesu po 2-3 cyklech léčby je možno potvrdit dobrou odpověď k zvolené terapii. Tak je možné posoudit prospektivní efekt velmi brzy po zahájení aplikace. (Fornier 2005; Mazouni 2007).

Pokud sérová hladina přesahuje 15 ng/ml lze predikovat dobrou odpověď k terapii, při nižších hladinách byla odpověď na aplikaci trastuzumabu slabá (Revilion 2008, Mazouni 2007, Papadopoulou 2008).

V jiných studiích sérová hladina ECD negativně korelovala s odpovědí na chemoterapii. Práce zdůrazňují, že zvýšená hladina ECD snižuje citlivost k cytostatikům a zároveň poukazují na dvojnásobně sníženou odpověď vůči hormonální terapii oproti nemocným s normálními hladinami ECD v cirkulaci (Hait, 2001, Salvadori 2005). Přestože byla potvrzena prediktivní hodnota ECD vyšetření, nebyla potvrzena prognostická významnost zvýšených hladin.

Prakticky všichni autoři uváděných studií posuzovali hladinu ECD u pokročilého onemocnění. Pouze v některých zprávách byl publikován vliv chirurgického výkonu u časného karcinomu prsu na sérové hladiny HER-2 (Isola 1994, Kong 2006). Autoři referují o 40 nemocných bez jakékoli předoperační léčby a porovnávají vzorky séra odebrané před chirurgickým výkonem s hladinami první, třetí a pátý den po operaci. Za hranici positivity je považována hladina 15 ng/ml. Počáteční koncentrace v séru významně poklesly ve vzorcích odebraných po operaci u většiny nemocných. Největší pokles byl pozorován v prvním pooperačním vzorku, v dalších dnech bylo snižování hladiny již pomalé. Toto pozorování podporuje nález nižších hladin ECD v séru u nemocných našeho souboru. Neměli jsme žádný materiál k případnému porovnání pooperačních hladin s úrovní před chirurgickým odstraněním nádoru.

Přítomnost ECD HER-2 v cirkulaci s sebou přináší celou řadu možných problémů:

Prvním z nich je, že zvýšená hladina ECD je schopna vázat na sebe trastuzumab a tím blokovat jeho funkci. To potvrzují některé studie, poukazující na nižší efekt trastuzumabu u nemocných s elevovanými hladinami ECD (Brodowicz 1997, Salvadori 2005).

Druhým problémem je možné uvolnění ECD HER-2 do cirkulace bezprostředně po aplikaci chemoterapie. Je možné toto pozorování použít jako ukazatel časné odpovědi na chemoterapii? Pokud se ECD uvolňuje do krve v důsledku destrukce nádoru, časný vzestup může indikovat dobrou odpověď k léčbě. Pokud je vzestup po aplikaci chemoterapie malý, může to znamenat, že nádor je vůči použité chemoterapii málo citlivý a pacient bude z této terapie mít jen malý prospěch (Hait 2001). Stanovování hladin ECD bezprostředně po zahájení léčby by mohlo uchránit nemocné, u kterých se léčba projeví jako málo účinná, od dalších cyklů této chemoterapie a umožnit volbu jiné kombinace s předpokládaným účinkem.

Vlivem účinné terapie dochází postupně k poklesu hodnot ECD v séru. Nemocné, u kterých se po ukončení terapie nalezne hladina ECD nad 10,5 ng/ml mají signifikantně nižší celkové přežití v porovnání s nemocnými, u kterých došlo k úplné negativizaci ECD v séru (Hayes 2001).

Naším cílem bylo zjistit, zda tkáňová exprese HER-2 zjištěná imunohistochemicky koreluje se sérovými hladinami ECD, stanovovaných v našem případě chemiluminiscenční metodou, u nemocných po operaci, před zahájením adjuvantní chemoterapie. Na podkladě našich výsledků lze konstatovat, že jsme shodu mezi oběma metodami našli. Pokud tkáňová exprese byla 3+, pak i v našem souboru jsme naměřili hodnoty nad 12 ng/ml, tedy pozitivní pro náš diagnostický set. Pokud bychom za hranici positivity považovali 15 ng/ml (hraniční hodnota pro pozitivitu u stanovení ELISA metodou), pak shoda v našem souboru je pouze

40%. V případě že tkáňová exprese nebyla zcela jednoznačně pozitivní (2+) hodnoty ECD v séru nepřekročili hladinu positivity ani jednou.

6. Závěr

6.1. Prokázali jsme, že i u postmenopauzálních žen dochází vlivem chemoterapie ke změnám v hladinách hormonů v cirkulaci. V porovnání s hodnotami před zahájením adjuvantní léčby jsme našli signifikantně nižší hodnoty LH, FSH a progesteronu v průběhu terapie a statisticky významné snížení hladiny estradiolu po skončení léčby chemoterapií. Toto snížení bylo tím větší, čím kratší byl odstup od menopauzy. U nemocných s vysokým BMI jsme prokázali významně nižší pokles hladiny progesteronu. Z toho je možné vyvodit, že dochází k ovlivnění zejména reziduální ovariální produkce estradiolu, možné však je i ovlivnění produkce v alternativních tkáních (tuk, mléčná žláza), lze připustit i ovlivnění procesu regulace tvorby hormonů (FSH, LH). Na výsledku terapie se tedy i u postmenopauzálních nemocných mohou podílet vlivy hormonální.

6.2. Neprokáali jsme statisticky významnou změnu hladin IGF-1 ani IGFBP-3 vlivem chemoterapie a hormonální léčby ani změnu ve vzájemném poměru IGF-1 a IGFBP-3. Možné ovlivnění růstu nádorů prostřednictvím změn hladin IGF-1 a IGFBP-3 jsme tedy nepotvrdili.

6.3. Potvrdili jsme, že hladiny ECD v séru jsou v korelaci s tkáňovou expresí HER-2. Přestože je zřejmé, že stanovení sérových hladin ECD není schopno nahradit FISH ani imunohistochemické vyšetření HER-2 v tkáni, naše výsledky nasvědčují tomu, že stanovení ECD může být použito pro predikci odpovědi na trastuzumab a případně k časné detekci relapsů a časnému monitorování efektivity léčby. V případě metastazujícího onemocnění je testování ECD využitelné pro zjištění aktuálního stavu HER-2 exprese a v případě, že není dostupná tkáň k vyšetření, může sérová pozitivita napomoci k volbě adekvátní metody léčby.

7. Seznam použité literatury

- Anderson, R. A., Cameron, D. A. (2007) Assessment of the effect of chemotherapy on ovarian function in women with breast cancer. *Journal of Clin. Oncol.* 25(12), 1630-1631.
- Anjum, S., Khan, S., Baig, S. M., Khanum, A., Haider, M. Z., Quazi, M. H. (1991) Effect of chemotherapy on circulating steroid hormone levels in postoperative premenopausal breast cancer patients. *J. Pak. Med. Assoc.* 41, 296-298.
- Barni, S., Lissoni, P., Bivio, F. (1994) Serum levels of insulin-like growth factor-I in operable breast cancer in relation to main prognostic variables and their perioperative changes in relation to those of prolactin. *Tumori* 80, 212-215.
- Bines, J., Oleske, D. M., Cobleigh, M. A. (1996) Ovarian function in premenopausal women treated with adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Journal of Clin. Oncol.* 14, 1718-1729.
- Bhatavdekar, J. M., Shah, N. G., Trivedi, N. S., Karelia, N. H. (1987) Peptide and steroid hormone levels in pre- and postmenopausal breast carcinoma. *Neoplasma* 34(1), 95-9.
- Brodowicz, T., Wiltschke, Ch., Budinsky, A., Krainer, M., Michl, I., Zellinger, R., Seifert, M., Kubista, E., Zielinski Ch. C. (1996) Tissue expression and serum levels of HER-2/neu in patients with breast cancer. *European Journal of cancer* 32, Suppl. 1, 17-18.
- Brodowicz, T., Wiltschke, Ch., Budinsky, A., Krainer, M., Steger, G. G., Zielinski, Ch. C. (1997) Soluble HER-2/neu neutralizes biologic effects of anti-HER-2/neu antibody on breast cancer cells in vitro. *Int. J. of Cancer* 73(6), 875-879.
- Braveman, A. S., Sawhney, H., Tendler, A., Patel, N., Rao, S., Kamenova, B., Weedon, J. (2006) Serum estradiol above the postmenopausal level after chemotherapy-induced amenorrhea in breast cancer patients. *Therapy* 3(5), 609-616.
- Bruning, P. F., Van Doorn, J., Bonfrer, J. M. (1995) Insulin-like growth-factor-binding protein 3 is decreased in early-stage operable pre-menopausal breast cancer. *International Journal of Cancer* 62, 266-270.
- Campbell, M. J., Woodside, V. J., Secker-Walker, J., Titcomb, A., Leatham, J. C. (2001) IGF status altered by tamoxifen in patients with breast cancer. *J. Clin. Pathol: Mol. Pathol.* 54, 307-310.
- Carney, W. P., Neumann, R., Lipton, A., Leitzel, K., Ali, S., Price, C. P. (2004) Monitoring the circulating levels of the HER2/neu oncoprotein in breast cancer. *Clin Breast Cancer* 5, (2), 105-116.
- Clark, G. M. (2000) Prognostic and predictive factors, disease of the breast, 2nd edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 489-513.
- Cobleigh, M. A. (1991) Treatment of breast cancer in premenopausal women, the role of ovarian ablation. ASCO, 35th annual meeting, Atlanta, Educational book, 32-37.
- Cobleigh, M. A., Vogel, C. L., Tripathy, D., Robert, N. J., Scholl, S., Fehrenbacher, L., Wolter, J. M., Paton, V., Shak, S., Lieberman, G., Salamon, D. J. (1999) Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic cancer disease. *Journal of Clinical Oncology* 17, 2639-2646.
- Colletti, R. B., Roberts, J. D., Devlin, J. T., Copeland, K. C. (1989) Effect of tamoxifen on plasma insulin-like growth factor 1 in patients with breast cancer. *Cancer Res.* 49(7), 1882-4.
- De Vita, V. T., Hellman, S., Rosenberg, S. A. (2005) *Cancer principles & practice of oncology*. 7th edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1399-1471.
- Dowset, M., Allred, C., Knox, J., Quinn, E., Salter, J., Wale, Ch., Cuzick, J., Houghton, J., Mallon, E., Bishop, H., Ellis, J., Carder, P., Cussac, A. L., Forbes, J., Buzdar, A. (2008) Relation between quantitative estrogen and progesterone receptor expression and HER-2 status with recurrence in arimidex, tamoxifen or in combination trial. *J. Clin. Oncol.* 26(7), 1-8.
- Dunn, S. E., Hardman, R. A., Kari, F. W., Barrett, J. C. (1997) Insulin-like growth factor-I alters drug sensitivity of HBL 100 human breast cancer cells by inhibition of apoptosis induced by diverse anticancer drugs. *Cancer Research* 57, 2687-2693.
- Ejlertsen, B., Mouridsen, H. T., Jensen, M., Bengtsson, N., Bergh, J., Cold, S., Edlund, P., Ewertz, M., de Graaf, P. W., Kamby, C., Nielsen, D. L. (2006) Similar efficacy for ovarian ablation compared with CMF. *Journal of Clin. Oncol.* 24(31), 4956-4962.
- Ellis, M. J., Jenkins, S., Hanfelt, J., Redington, M. E., Taylor, M., Leek, R., Siddle, K., Harris, A. (1998) Insulin-like growth factors in human breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 52, 175-184.
- El-Sawy, W. H., Abou Taleb, F. M., Kader, M. A., Dorgham, Y. T., Radwan, D. A. (2002) Circulating HER2 extracellular domain and response to chemotherapy in metastatic breast cancer. *Journal of the Egyptian Nat Cancer Inst* 14: 29-37.
- Favoni, R. E., Cupis, A., Perrotta, A. (1995) Insulin-like growth factor-I and IGF-binding proteins blood serum levels in women with early- and late-stage breast cancer: mutual relationship and possible correlation with patients' hormonal status. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 121, 674-682.
- Ferrari, L., Martinetti, A., Zilembo, N., Pozzi, P., Buzzoni, R., La Torre I. (2002) Short term effects of anastrozole treatment on insulin-like growth factor system in postmenopausal advanced breast cancer patients. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 80(4-5), 411-18.
- Fornier, M. N., Seidman, A. D., Schwartz, M. K., Ghani, F., Thiel, R., Norton, L., Hudis, C. (2005) Serum HER 2 extracellular domain in metastatic breast cancer patients treated with weekly trastuzumab and paclitaxel: association with HER 2 status by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization and with response rate. *Anal. of Oncology* 16, 234-239.

- Frost, V. J., Helle, S. I., Lonning, P. E., van der Strappen, J. W., Holly, J. M. (1996) Effects of treatment with megestrol acetate, aminoglutethimide, or formestane on insulin-like growth factor 1 and 2, IGF-binding proteins and IGFBP-3 protease status in patients with advanced breast cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81(6), 2216-21.
- Fukuda, M., Watanabe, H., Suda, S., Schimizu, S. (1999) Sequential changes in hormone levels in postmenopausal breast cancer patients undergoing treatment with aromatase inhibitor. *Japanese Journal of Cancer and Chemotherapy* 26(14), 2201-2208.
- Furstenberger, G., Morant, R., Senn, H.J. (2003) Insuline-like growth factors and breast cancer. *Onkologie* 26, 290-294.
- Gee, J. M., Robertson, J. F., Gutteridge, E., Ellis I. O., Pinder, S. E., Rubini, M., Nicholson, R. I. (2005) Epidermal growth factor receptor/HER2/insulin-like growth factor receptor signaling and oestrogen receptor activity in clinical breast cancer. *Endocrine-Related cancer* 12 (Suppl-1), 99-111.
- Hait, W.N. (2001) The prognostic and predictive values of ECD-HER-2. *Clinical Cancer Research* 7, 2601-2604.
- Hamelers, I. H., Steenbergh P. H. (2003) Interactions between estrogen and insulin-like growth factor signaling pathway in human breast tumor cells. *Endocr. Relat. Cancer* 10, 331-45.
- Helle, S. I., Lonning, P. E. (1996) Insulin-like growth factors in breast cancer. *Oncologica* 35, 19-22.
- Hayes, D. F., Yamauchi, H., Broadwater, G., Cirincione, C. T., Rodrigue, S.P., Berry, D. A., Younger, J., Panasci, L. L., Millard, F., Duggan, D.B., Norton, L., Henderson, I. C. (2001) Circulating HER-2/erbB-2/neu (HER-2) extracellular domain as a prognostic factor in patients with metastatic breast cancer: Cancer and leukemia group B study 8662. *Clin Cancer Res* 7(9), 2703-11.
- Ho, G. H., Luo, X. W., Ji, C. Y., Foo, S. C., Ng, E. H. (1998) Urinary 2/16 alpha-hydroxyestrone ratio: correlation with serum insulin-like growth factor binding protein-3 a potential biomarker of breast cancer risk. *Ann. Acad. Med. Singapore* 27(2), 294-9.
- Isola, J. J., Holli, K., Oskala, H., Teramoto, Y., Kallioniemi, O. P. (1994) Elevated c-erbB2 oncoprotein levels in presurgery and follow-up serum sample defined in aggressive course in patients with breast cancer. *Cancer* 73, 652-8
- Jordan, V. C., Fritz, N. F., Langan, Fahey, S., Thompson, M., Torney, D. C. (1991) Alteration of endocrine parameters in premenopausal women with breast cancer during long-term adjuvant therapy with tamoxifen as the single agent. *J. Natl. Cancer Inst.* 16, 1488-91.
- Jorissen, R. N., Walker, F., Pouliot, N., Garret, T., Ward, C. W., Burges, A. W. (2003) Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling. *Exp. Cell. Res.* 284, 31-53.
- Kajdaniuk, D., Marek, B. (2000) Influence of adjuvant chemotherapy with cyclophosphamide, methotrexate and 5-fluorouracil on plasma insulin-like growth factor-I and chosen hormones in breast cancer in pre-menopausal patients. *Journal of Clinical Pharmacy & Therapeutics* 25, 67-70.
- Kong, S. Y., Kang, J. H., Kwon, H. S., Chung, K.W., Kang, S.H., Lee, D.H., Ro, J., Lee, E. S. (2006) Serum HBR-2 concentrations in patients with primary breast cancer *Journal of Clinical Pathology* 59, 373-6.
- Kostoglou – Athanassiou, I., Ntales, K., Gogas, J., Makropoulos, C., Alevizou-Terzaki, V., Athanassiou, P., Georgiou, E., Proukakis, C. (1997) Sex hormones in postmenopausal women with breast cancer on tamoxifen. *Horm. Res.* 47(3), 116-20.
- Kutluk, O., Ozgur, O. (2006) Measuring the impact of chemotherapy on fertility in women with breast cancer. *Journal of clinical oncology* 24, 4044-4046.
- Laban, C., Bustin, S. A., Jenkins, P. J., (2003) The GH-IGF-1 axis and breast cancer. *Trends Endocrinol. Meta.* 14, 28-34.
- Lahti, E. I., Knip, M., Laatikainen, T. J. (1994) Plasma insulin-like growth factor 1 and its binding proteins 1 and 3 in postmenopausal patients with breast cancer receiving long term tamoxifen. *Cancer* 74(2), 618-24.
- Lonning, P. E., Johannessen, d. C., Lien, E. A., Ekse, D., Fotsis, T., Adlercreutz, H. (1995) Influence of tamoxifen on sex hormones, gonadotrophins and sex hormone binding globulin in postmenopausal breast cancer patients. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 52(5), 491-6.
- Lonning, P. E., Helle, S. I. (2004) IGF-1 and Breast cancer. *Novartis Found symp.* 262, 205-12.
- Lukanova, A., Lundin, E., Zeleniuch-Jacquotte, A., Muti P., Mure, A., Rinaldi, S., Dossus, L., Micheli, A., Lenner, P., Shore, R. E., Krogh, V., Koenig, K. L., Riboli, E., Berrino, F., Hallmans, G., Stattin, P., Toniolo, P., Kaaks, R. (2004) Body mass index, circulating levels of sex-steroids, IGF-1, IGFBP-3: a cross-sectional study in healthy women. *Eur. J. Endocrinol.* 150 (2), 161-71.
- Massarweh, S., Osborne, C. K., Creighton, C. J., Qin, L., Tsimelzon, A., Huang, S., Weiss, H., Rimawi, M., Schiff, R. (2008) Tamoxifen resistance in breast tumors is driven by growth factor receptor signaling with repression of classic estrogen receptor genomic function. *Cancer Res.* 68(3), 826-33.
- Mazouni, C., Hall, A., Broglio, K., Fritsche, H., Andre, F., Esteva, F. J., Hortobagyi, G. N., Pusztai, L., Cristofanilli, M. (2007) Kinetics of serum HER-2/neu changes in patients with HER-2 positive primary breast cancer after initiation of primary chemotherapy. *Cancer* 109 (3), 496-501.
- McCotter, D., van den Berg, H. W., Boylan, M., McKibben, B. (1998) Changes in Insuline-like growth factor receptor-1 expression a binding protein secretion associated with tamoxifen resistance and estrogen independence in human breast cancer cells in vitro. *Cancer Lett.* 99(2), 239-45.

Moschos, S. J., Mantzoros, C. S. (2002) The role of IGF system in cancer: from basic to clinical studies and clinical applications. *Oncology* 63, 317-332.

Nahta, R., Hortobágyi G. N., Esteva F. J. (2003) Growth factor receptors in breast cancer: Potential for therapeutic intervention. *The Oncologist*, 8, 1, 5-17.

Nieto, Y., Nawaz, F., Jones, R. B., Shpall, E. J., Nawaz, S. (2007) Prognostic significance of overexpression and phosphorylation of epidermal growth factor receptor and the presence of truncated EGFR in locoregionally advanced breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 25(28), 4405-13.

Olsen, D. A., Ostergaard, B., Bokmand, S., Wamberg, P. A., Jakobsen, E. H., Brøndslund, I. (2007) HER-2 protein concentrations in breast cancer cells increase before immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization analysis turn positive. *Clin. Chem. Lab. Med.* 45(2), 177-82.

Osborne, C. K., Clemmons, D. R., Artega, C. L. (1990) Regulation of breast cancer growth by insulin-like growth factors. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 37(6), 805-9.

Osborne, C. K. (1998) Steroid hormone receptors in breast cancer management. *Breast cancer res. Treat.* 51, 228.

Osborne, C. K., Schiff, R. (2007) Novel strategies for HER targeted therapy and mechanisms of resistance. *SABCS Educational book*, 5-48.

Papadopoulou, E., Tripsianis, G., Anagnostopoulos, K., Tentis, I., Kakolyris, S., Galazios, G., Sivridis, E., Simopoulos, K., Kortsaris, A. (2008) The influence of serum HER-2 levels and HER-2 codon 655 polymorphism on breast cancer outcome. *Neoplasma* 55(2), 113-21.

Parkin, D. M., Bray, F., Ferlay, J., Pisani, M. (2001) Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int. J. Cancer* 94, 153

Perez, E. A. (2006) HER-2 as a prognostic, predictive, and therapeutic target in breast cancer. *The Oncologist* 11, suppl., 15-26.

Peyrat, J. P., Revillion, F., Bonnetterre, J. (1998) Plasma insulin-like growth factor in primary breast cancer patients treated with adjuvant chemotherapy. *British Journal of Cancer* 77, 1669-1671.

Pollak, M., Constantino, J., Polychronakos, C. (1990) Effect of tamoxifen on serum insulin-like growth factor I levels in breast cancer patients. *Journal of the National Cancer Institute* 82, 1693-1697.

Pollak, M. (1998) IGF-I physiology and breast cancer. *Recent Results Cancer Res.* 152, 63-70.

Ren, Z., Shin, A., Cai, Q., Shu, X., Gao, Y., Zheng, W. (2007) IGF1BP3 mRNA expression in benign and malignant breast tumors. *Breast Cancer Res.* 9, 1186-92.

Revillion, F., Lhotellier, V., Hornez, L., Bonnetterre, J., Peyrat, J. P. (2008) ErbB/HER ligands in human breast cancer, and relationships with their receptors, the biopathological features and prognosis. *Ann. Oncol.* 19(1), 73-80.

Sachdev, D., Yee, D. (2001) The IGF system and breast cancer. *Endocrine Related Cancer* 8, 197 - 209.

Salvadori, B., Pinzani, P., Distanti, V., Casella, D., Bianchi, S., Paglierani, M., Vezzosi, V., Neumann, R., Cataliotti, L., Pazzagli, M., Orlando, C. (2005) Comparison of pre and postsurgical concentrations of blood HER-2 mRNA and HER-2 ECD reflects HER-2 status in early breast cancer. *Clinical Chemistry* 51, 254-256.

Sarfstein, R., Maor, S., Reziner, N., Abramovitch, S., Werner, H. (2006) Transcriptional regulation of the insulin-like growth factor-1 receptor gene in breast cancer. *Mol. Cell. Endocrinol.* 27, 241-6.

Schippinger, W., Regitnig, P., Bauernhofer, T., Ploner, F., Hofmann, G., Krippel, P., Wehrenscht, M., Lax, S., Carney, W., Neumann, R., Werenecke, K. D., Samonigg, H. (2004) The course of serum HBR-2/neu levels as an independent prognostic factor for survival in metastatic breast cancer. *Oncology reports* 11, 1331-1336.

Secreto, G., Recchione, C., Cavalleri, A., Miraglia, M., Dati, V. (1983) Circulating levels of testosterone, 17beta-oestradiol, luteinising hormone and prolactin in postmenopausal breast cancer patients. *Br. J. Cancer* 47(2), 269-75.

Shapiro, C. L., Recht, A., (2001) Side effects of adjuvant treatment of breast cancer. *A Engl J Med* 34, 1997.

Slamon, D. J., Leyland-Jones, B., Shak, S., Fuchs, H., Paton, V., Bajamonde, A., Fleming, T., Eiermann, W., Wolter, J., Pegram, M., Yarden, Y., Sliwkowski, M. X. (1997) Untangling the ErbB signaling network. *Nature Reviews in Molecular and Cellular Biology* 2001; 2:127-137

Slamon, D. J., Clark, G. M., Wong, S.G., (1997) Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HEHER/neu oncogene. *Science* 235, 177-182.

Slamon, D. J., Leyland-Jones, B., Shak, S., Fuchs, H., Paton, V., Fleming, T., Eiermann, W., Wolter, J., Pegram, M., Yarden, Y., Sliwkowski, M. X. (2001) Untangling the ErbB signaling network. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2, 127-137.

Song, R. X., Zhang, Z., Chen, Y., Santen, R. J. (2007) Estrogen signalling via a linear pathway involving IGF-1 receptor, matrix metalloproteinases, and EGFR to activate mitogen-activated protein kinase in MCF-7 breast cancer cells. *Endocrinology* 148(8), 4091-4101.

Sturgeon, S. R., Potischman, N., Malone, K. E., Dorgan, J. F., Daling, J., Scharier, C., Brinton, L. A. (2004) Serum levels of sex hormones and breast cancer risk in premenopausal women. *Cancer Causes Control* 15, 45-53.

Todorovič-Rakovič, N., Neškovič- Konstantinovič, Z., Nikolič-Vukosavljevič, D. (2006) *Arch. Oncol.* 14, 146-50.

Varma, H., Conrad, S. E. (2002) Antiestrogen ICI 182,780 decreases proliferation of insulin-like growth factor 1 treated MCF-7 cells without inhibiting IGF-1 signaling. *Cancer Res.* 62(14), 3985-91.

Wong, S. F., Reimann, K., Lai, L. C. (2001) Effect of transforming growth factor-beta1, insulin-like growth factor-1 and insulin-like growth factor-2 on cell growth and oestrogen metabolism in human breast cancer cell lines. *Pathology* 33(4), 454-9.

Yamauchi, H., Hayes, D. F. (2007) HER-2 and predicting response to therapy in breast cancer. *UpToDate*, August 2007.

Yamauchi, H., Stearns, V., Hayes, D. F. (2001) 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.* 9, 2334-2356.

Yarden, Z., Sliwkowski, M. X. (2001) Untangling the ErbB signalling network. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2, 127-137.

Yasumura, T., Akami, T., Mitsuo, M., Oka, T., Naitoh, K., Yamamoto, T., Honjo, H., Okada, H. (1990) The effect of adjuvant therapy with or without tamoxifen on the endocrine function of patients with breast cancer. *Jpn. J. Surg.* 20, 369-375.

Yu, H., Rohan, T. (2001) The role of insulin-like growth factor family in cancer development and progression. *JNCI* 92, 1472-1489.

Yu, H., Shu, X. O., Li, B. D., Dai, Q., Gao, Y. T., Jin, F., Zheng, W. (2003) Joint effect of insulin-like growth factors and sex steroids on breast cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 12(10), 1067-73.

Publikované práce se vztahem k tématu:

Příbylova O., Springer D., Svobodník A., Kyr M., Zima T., Petruzelka L.
Influence of chemotherapy to hormonal levels in postmenopausal breast cancer patients
Neoplasma 2008, 55, 4, 294 - 298
IF 0,648

Příbylova O., Springer D., Vítková I., Zima T., Petruzelka L.
HER-2 tissue expression correlated with serum levels in breast cancer patients
Folia Biologica, 2007, 53, 129-133
IF 0,493

Publikace bez vztahu k tématu:

S IF

1. Janku F., Příbylova O., Zimovjanova M. et al
4-years results of weekly trastuzumab and paclitaxel in the treatment of women with HER-2/neu overexpressing advanced breast cancer. Single institution prospective study.
Bull. Cancer, 2004, 91, 279-283 IF 0,983

Bez IF

1. Bek V., Příbylová O., Abrahámová J., Hynieová H., Hrodek O.
K problematice profylaktické radioterapie CNS u ALL v dětství,
Čs. Radiol. 34-4, 1980, 221-118
2. Kvíčala V., Příbylová O., Hrodek O., Hynieová H., Abrahámová J.
CT nálezy u leukemických dětí po ozáření CNS
Chemotherapia oncologica 8, 1983, 22-24
3. Příbylová O., Vyhnanek L., Abrahámová J.
Pozdní změny po ozáření hemangiomů v dětském věku
Chemotherapia oncologica 8, 1983, 25-28
4. Příbylová O.
Výroční závěrečná zpráva: Pozdní změny po ozařování v dětském věku
Oponentura 4.9.1985
5. Jakoubková J., Příbylová O., Středa A., Aschermannová A.
Aminoglutethimid - medikamentózní adrenalectomie u karcinomu prsu
Klinická onkologie I, 1986
6. Abrahámová J., Bek V., Příbylová O.
Pozdní radiační změny po léčbě zhoubných nádorů u dětí
Čs. Radiol. 41-1, 1987, 14-21
7. Jakoubková J., Příbylová O.

Klinické hodnocení přípravku Lomustin VUFB
Klinická onkologie 2, 1988, 1

8. Bauer J. a kol. Obecná a speciální onkologie, skripta pro studenty
Kapitoly Urologické nádory, Testikulární nádory, Nádory dětského věku 1993

9. Petruželka L., Příbylová O.
Carboplatin v léčbě zhoubných nádorů
Sborník Lachema, 1994

10. Příbylová O., Sedláčková E.
Paliativní radioterapie
Prakt. lékař, 9, 1996, 76

11. Příbylová O.
Mezioborová spolupráce v onkologii je samozřejmostí
Zd. n. LL, 36, 1996, 11

12. Koutecký a spol. Nádorová onemocnění dětí a mladistvých, kapitola radioterapie,
Karolinum, Praha, 1997

13. Příbylová O. Petruželka L., a kol
Srovnání adjuvantní chemoterapie karcinomu prsu kombinací CMF a AC. První výsledky
komparativní studie. Sborník lékařský, 99, 1998, 1, 25-31

14. Petruželka L., Betka J., Kasík P., Honová H., Příbylová O. Zatloukal P. Judas L.
Combined radiotherapy and intra-arterial chemotherapy for advanced cancer of oropharynx
C. J. Rosenthal and M. Rotman Infusion Chemotherapy - Irradiation interactions
kapitola 23, 237-247, Elsevier Science B.V.

15. Příbylová O. a kol.
Srovnání adjuvantní chemoterapie karcinomu prsu kombinací CMF a AC. První výsledky
národní kooperativní studie.
Sborník lékařský 99, 1998, 1, 25-33 - oceněné ČOS

16. Příbylová O.
Gemcitabin, LL. Zd. n. č 38, 1998, 5

17. Příbylová O., Petruželka L., et al
Comparative study of adjuvant chemotherapy of breast cancer with CMF versus AC.
Monduzzi Editore, International Proceedings division, 17th ICC, 1998, 811-815

18. Příbylová O. a kol
Tamoxifen versus tamoxifen +chemoterapie v adjuvantní léčbě karcinomu prsu, výsledky
multicentrické grantové studie IGA MZ ČR 1545-6, závěrečná zpráva 1998

19. Příbylová O. a kol
Příbylová O. a kol
Adjuvantní léčba karcinomu prsu, CMF nebo kombinace s antracykliny
IGA MZ ČR 1545 - 6 závěrečná zpráva 1998

20. Příbylová O.
Tamoxifen v adjuvantní léčbě karcinomu prsu 5 let nebo déle?
Sborník 4. ročníku Onkologie v gynekologii a mammologii 1999, 122-124

21. Příbylová O. et al

The comparative randomised study of adjuvant therapy of breast cancer patients with
tamoxifen versus tamoxifen plus chemotherapy, European Journal of cancer, 1999, 35,
supp.4, 209

22. Příbylová O. a kol
Tamoxifen versus tamoxifen +chemoterapie v adjuvantní léčbě karcinomu prsu, výsledky
multicentrické grantové studie
Zd. n. LL. 1999, 1

23. Příbylová O. a kol
Adjuvantní léčba karcinomu prsu, CMF nebo kombinace s antracykliny
Zd. n. LL, 1999, 1

24. Příbylová O.
Léčba bolesti u onkologických nemocných, Causa Subita 5, 2000

24. Příbylová O.
Nové směry v terapii ovariálního karcinomu. Zd. n. LL36, XLIX, 2000, 8-9

25. Příbylova O., Petruzelka L., Ragaz J., et al
CMF versus AC, can dose escalation of CMF compensate for the absence of antracyclins
Breast cancer treatment, 69, 3, 248, ISSN 0167-6806

26. Janku F., Příbylova O., Petruzelka L. et al
Efficacy of weekly trastuzumab and paclitaxel in the treatment of women with HER-2 neu
positive breast cancer
Radiol. Oncol, 2002, 36(2), 121-129

27. Příbylova O., Petruzelka L. B., Shumansky K., Spinelli J. J., Ragaz J.
Randomized trial of adjuvant equitoxic dose-escalated antracycline-containing regimen of
doxorubicin, cyclophosphamide versus cyclophosphamide, methotrexate, 5-FU for stage I-II
breast cancer: can equitoxicity compensate for agent selection?
Journal of Clinical Oncology, 2005, 23, 818.