

## ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗΣ ΠΡΟΤΑΣΗΣ

**Επιστημονική Περιοχή:** Ιατρική Επιστήμη, Παθολογική Ανατομική, Ογκολογία, Μοριακή Βιολογία.

**Λέξεις Κλειδιά:** Καρκίνος μαστού, Ογκογονίδιο HER2, Ανοσοϊστοχημεία, SISH.

**Πανεπιστήμιο/Τμήμα/Τομέας/Εργαστήριο:** Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Τομέας Ιατρικών Εργαστηρίων, Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής Γ.Ν.Α. ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟ.

**Γλώσσα:** Ελληνική.

### ΤΙΤΛΟΣ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ:

Αξιολόγηση του Ογκογονιδίου HER2 στον καρκίνο του μαστού μέσω της τεχνικής Silver In Situ Hybridization (SISH).

#### A. Αναλυτική περιγραφή ερευνητικής πρότασης

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί την πιο κοινή κακοήθεια στις γυναίκες στο δυτικό κόσμο. Υπολογίζεται ότι μία στις οκτώ Αμερικανίδες γυναίκες μπορεί να αναπτύξει διηθητικό καρκίνωμα μαστού μία φορά στη ζωή της. Τα χαμηλότερα ποσοστά καρκίνου μαστού εμφανίζονται στην Ασία και την Αφρική αλλά τα περιστατικά σταθερά αυξάνονται και τα χαμηλά ποσοστά επιβίωσης αποτελούν αιτία σοβαρής ανησυχίας. Οι διάφοροι παράγοντες κινδύνου είναι η ηλικία, η πυκνότητα του μαστού, το οικογενειακό ιστορικό υγείας, οι γενετικές μεταλλάξεις στα γονίδια καταστολής όγκων BRCA1, BRCA2 και άλλα γονίδια ευαισθησίας στον καρκίνο του μαστού, η πρόσληψη αλκοόλ, τα ενδογενή επίπεδα οιστρογόνων, η έκθεση του μαστού στην ακτινοβολία, η παχυσαρκία και η φυλή – εθνικότητα. Ο καρκίνος του μαστού είναι μια ετερογενής ασθένεια που χαρακτηρίζεται από έναν έως εικοσιένα ξεχωριστούς ιστολογικούς υποτύπους και τουλάχιστον τέσσερις διαφορετικούς μοριακούς υποτύπους ο καθένας με διακριτές παρουσιάσεις, απόκριση στη θεραπεία και κλινικές εκβάσεις. [1] Μια κρίσιμη ισορροπία μεταξύ του πολλαπλασιασμού των κυττάρων και της απόπτωσης είναι απαραίτητη για την κανονική ανάπτυξη του μαστού. Συσώρευση από γενετικές ή επιγενετικές μεταλλάξεις από διάφορους παράγοντες και η διαταραχή αυτής της ισορροπίας οδηγεί στην ανάπτυξη του όγκου του μαστού. Οι όγκοι του μαστού είναι ετερογενείς στη γενετική τους σύνθεση και είναι ιστολογικά διαφορετικοί με βάση τον υποδοχέα, τους δείκτες πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης που συσχετίζονται με πρόγνωση ασθενειών. [2]

Η ενίσχυση του πρωτό - ογκογονιδίου HER2 και η πρωτεϊνική υπερέκφραση του παρατηρείται στο 20-40% των ασθενών με καρκίνο του μαστού και παίζει καθοριστικό ρόλο στη βιολογική συμπεριφορά και την παθογένεση του καρκίνου του μαστού και της θεραπείας του. Τόσο οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού που είναι θετικοί στο ογκογονίδιο όσο και οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού, των οποίων οι όγκοι παρουσιάζουν πρωτεϊνική ενίσχυση HER2, έχουν κακή πρόγνωση, αυξημένο κίνδυνο υποτροπής και υψηλό κίνδυνο θνησιμότητας σχετιζόμενης με τη νόσο, επιδεικνύοντας συνολικά βραχύτερο χρόνο επιβίωσης. [3-7] Το γονίδιο HER2 [επίσης γνωστό ως ERBB2 ή επιδερμικός υποδοχέας αυξητικού παράγοντα (EGFR 2)] κωδικοποιεί μια διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη 185 kDa με δραστικότητα κινάσης τυροσίνης. Το HER2 έχει υψηλή ομολογία αλληλουχίας με άλλα μέλη της οικογένειας EGFR.[8] Η λειτουργία αυτών των υποδοχέων είναι η ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης, της διαφοροποίησης και της επιβίωσης. Η ενεργοποίηση υποδοχέα απαιτεί τρία συστατικά: έναν συνδέτη, έναν υποδοχέα και ένα διμερισμό εταίρος. Όταν ένας ειδικός συνδετήρας δεσμεύεται με έναν υποδοχέα HER2, πρέπει να συνδυάζεται με έναν άλλο υποδοχέα παρόμοιας δομής και να υφίσταται διμερισμό. Αυτό προκαλεί μια σειρά από γεγονότα φωσφορυλίωσης και μεταγωγής σήματος που επηρεάζουν τη μεταγραφή ειδικών γονιδίων που εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυττάρων. [9] Η ανοσοϊστοχημεία είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη, πιο απλή και οικονομικά αποτελεσματική αρχική εξέταση για την έκφραση πρωτεΐνης HER2. Τα ανοσοϊστοχημικά αποτελέσματα HER2 διαιρούνται γενικά σε τέσσερις βαθμολογίες κλίμακας (εύρος, 0 έως 3+), ανάλογα με το ποσοστό των θετικών κυττάρων του όγκου και την ένταση της χρώσης. Ο Αμερικάνικος Οργανισμός Φαρμάκων (FDA) συνιστά τα ανοσοϊστοχημικά αποτελέσματα HER2 0+ και 1+ να θεωρούνται HER2 αρνητικά και τα άτομα με βαθμολογία HER2 (3+) θα πρέπει να θεωρούνται ως HER2 θετικά, ενώ ο HER2 διαφορούμενος διηθητικός καρκίνος του μαστού είναι εκείνος με σκορ HER2 (2+). Αυτό είναι κάτι που πρέπει να αξιολογηθεί περαιτέρω με την τεχνική του φθορίζοντα υβριδισμού (FISH), η οποία σαν διαδικασία είναι ακριβέστερη και πιο αξιόπιστη από την ανοσοϊστοχημεία. Ωστόσο, στα μειονεκτήματα της είναι η ανάγκη για εξειδικευμένο χειριστή, η μακρά διαδικασία, ο ειδικός εξοπλισμός και η μη μακροχρόνια συντήρηση των δειγμάτων για μεταγενέστερη αναθεώρηση.[10] Μια πλήρως αυτοματοποιημένη μέθοδος, η Silver In Situ Hybridization (SISH) μπορεί να ξεπεράσει τα μειονεκτήματα του FISH και να έχει την ίδια ακρίβεια του FISH.

Τα πλεονεκτήματα του SISH περιλαμβάνουν υψηλή ευαισθησία για ανίχνευση αντιγράφων ενός γονιδίου, ποσοτικοποίηση στόχων DNA με υψηλή ανάλυση και αντίθεση βαφής με υψηλή αντίθεση οπτικοποίησης του σήματος ξεχωριστά και προσδιορισμό της μορφολογίας του θέματος .[11] Ωστόσο, η έκφραση του HER2 προβλέπει μια ευνοϊκή απόκριση στη χημειοθεραπεία και στη θεραπεία με αντίσωμα αντι-Her2 [12], εφόσον το εξανθρωπισμένο αντίσωμα αντι-HER2 δεσμεύεται στον υποδοχέα HER2, εμποδίζοντας έτσι ετεροδιμερισμό και διακόπτοντας την προς τα κάτω οδό σηματοδότησης. Επιπλέον, το δεσμευμένο αντίσωμα προκαλεί κυτταροτοξικότητα μεσολαβούμενη από FcR.[9] Ως εκ τούτου, είναι εξαιρετικά σημαντικό να καθοριστεί η ακριβής κατάσταση του ογκογονιδίου HER2 διότι από την έκβαση της θα κριθεί αν ο ασθενής θα λάβει βιολογική θεραπεία. Στην παρούσα Διδακτορική Διατριβή θα μελετηθούν 150 περιστατικά διηθητικού καρκίνου μαστού και η ακριβής έκφραση του ογκογονιδίου HER2 σε όσα από αυτά το σκορ της ανοσοϊστοχημείας είναι με σκόρ 2+.

#### **B. Καινοτομία της διδακτορικής διατριβής**

Η επιβεβαίωση του διαφορούμενου ανοσοϊστοχημικά ογκογονιδίου HER2 με σκόρ 2+ ως προβλεπτικού δείκτη με την μοριακή τεχνική SISH.

#### **Γ. Χρονοδιάγραμμα**

Η μελέτη αναμένεται να ολοκληρωθεί σε διάστημα τριών ετών (36 μήνες).  
Επιλογή και συλλογή περιστατικών - δεδομένων και δημιουργία στατιστικού πρωτοκόλλου. 14 μήνες

Επεξεργασία δεδομένων. 14 μήνες

Συγγραφή ερευνητικών άρθρων. 8 μήνες

## Δ. Βιβλιογραφία

[1].American Cancer Society, 2015; Ferlayetal., 2015.

[2].Vakkalaetal., 1999.

[3].Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich and McGuire WL:Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. Science 235: 177-182, 1987.

[4].Andrulis IL, Bull SB, Blackstein ME, *et al*: Neu/erbB-2 amplification identifies a poor-prognosis group of women with node-negative breast cancer. Toronto Breast Cancer Study Group. J Clin Oncol 16: 1340-1349, 1998.

[5]. Press MF, Bernstein L, Thomas PA, *et al*: HER-2/neu gene amplification characterized by fluorescence *in situ* hybridization: poor prognosis in node-negative breast carcinomas. J Clin Oncol 15: 2894-2904, 1997.

[6]. Ro JS, El-Naggar A, Ro JY, Blick M, Frye D, Fraschini G, Fritsche H and Hortobagyi G: C-erbB-2 amplification in node-negative human breast cancer. Cancer Res 49: 6941-6944, 1989.

[7].Paterson MC, Dietrich KD, Danyluk J, *et al*: Correlation between c-erbB-2 amplification and risk of recurrent disease in node-negative breast cancer. Cancer Res 51: 556-567, 1991.

[8] Duffy MJ: Predictive markers in breast and other cancers: a review. ClinChem 51: 494-503, 2005.

[9].Davoli A, Hocevar BA and Brown TL: Progression and treatment of HER2-positive breast cancer. Cancer Chemother Pharmacol 65: 611-623, 2010.

[10].Ji Y, Sheng L, Du X, Qiu G, Chen B, Wang X. Clinicopathological variables predicting HER-2 gene status in immunohistochemistry - equivocal (2+) invasive breast cancer. J Thorac Dis 2014; 6:896-904.

[11].Powell RD, Pettay JD, Powell WC, Roche PC, Grogan TM, Hainfeld JF, *et al*. Metallographic *in situ* hybridization. Hum Pathol 2007; 38:1145-59.

[12].Quddus RM, Sung JC, Zhang C, Pasqueriello T, Eklund M and Steinhoff MM: Her2/neu expression in locally advanced breast carcinomas: pre- and post-neoadjuvant chemotherapy. Breast Cancer 12: 294-298, 2005.