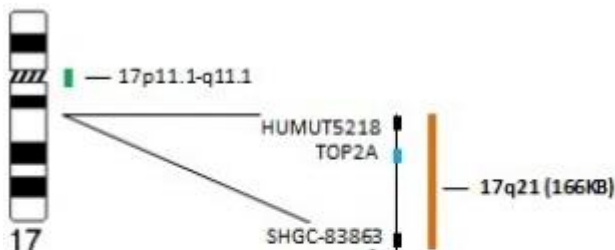




Návod k použití TOP2A/CEP17

Umístění sondy na chromozómu



Popis sondy

LSI TOP2A FISH kit je určen k vyšetření amplifikace/delece genu TOP2A pomocí fluorescenční in situ hybridizace (FISH) v lidské nádorové tkáni. LSI TOP2A FISH kit obsahuje dvě přímo značené fluorescenční sondy v hybridizačním pufru. TOP2A próba je značená fluorochromem Orange a pokrývá oblast genu 17q12-q22. Centromerická (alfasatelitní) próba CEP17 je značená fluorochromem Green a hybridizuje k úseku 17p11.1-17q11.1.

Enzymová aktivita topoizomeráz se uplatňuje zejména při organizaci terciální struktury DNA. Molekula DNA je v jádře buňky ukotvena na proteiny nukleární matrix, mezi nimiž se díky dalšímu vinutí (torzi) vytváří terciální DNA struktura zvaná nadšroubovice (superhelix). Nemá-li se torze nadšroubovice DNA neustále stupňovat až do zlomu DNA řetězce, musí být v buňce přítomný mechanismus schopný pnutí v DNA nadšroubovici uvolnit. Tuto funkci – katalyzovat změny topologie DNA nadšroubovice – mají jaderné enzymy DNA topoizomerázy, přičemž DNA topoizomerázy II jsou přímo součástí nukleární matrix. DNA topoizomerázy II jsou v buňce nutné k zajištění replikace, transkripce, ale i segregace či kondenzace chromozómů. Z tohoto důvodu je zvýšená exprese TOP2A (TopoII α) zaznamenávána v S, G2 a M fázích buněčného cyklu. Lidská topoizomeráza II se vyskytuje ve dvou vysoce homologních izoformách – izoformě α (170 kDa) a izoformě β (180kDa). Topoizomeráza II je cílovou molekulou pro řadu cytostatik, takzvaných topoII inhibitorů.

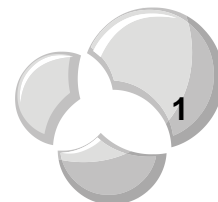
Zvýšené množství topoizomerázy dané amplifikací TOP2A genu disponuje nádorové buňky k vyšší citlivosti na topoII inhibitory (například antracykliny). Toto vyšetření tak může ovlivnit výběr protinádorové léčby u karcinomu prsu. Většina inhibitorů DNA topoizomeráz se současně váže na DNA řetězce a molekulu DNA topoizomerázy za vzniku stabilního komplexu, čímž jsou stabilizovány zlomy v DNA řetězcích, je zabráněno opětovné ligaci rozštěpených DNA vláken a indukují se DNA reparační mechanismy nebo apoptóza. Oba procesy běží přes celou škálu signálních drah. Nejčastěji studovaná je však dráha onkosupresoru p53 a/nebo jeho následného efektoru proteinu p21WAF1/CIP1.

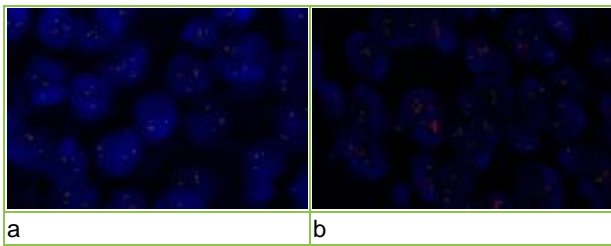
Udává se, že asi u 50% nádorů prsu s amplifikací Her-2/neu genu dochází taktéž k amplifikaci TOP2A. Tyto pacientky jsou citlivější k léčbě inhibitory topoizomerázy II α , a to je hlavní důvod preferenční citlivosti nemocných s amplifikací Her2/neu na antracyklinové režimy.

Pro odlišení pravé amplifikace genu TOP2A od polyzomie chromozómu 17 lze použít směs přímo značených sond LSI TOP2A (Orange) a CEP 17 (Green).

Výsledky FISH

Za normálních okolností pozorujeme v buňce dva oranžové signály TOP2A (Obr.1a) a dva signály zelené na centromeře chromozómu 17, při amplifikaci genu pozorujeme větší množství oranžových signálů (Obr.1b).





Obr. 1: Stanovení počtu kopií genu TOP2A a současného počtu kopií chromozómu 17 na parafinových řezech.

- LSI TOP2A
- CEP17

a) Dvě kopie genu TOP2A i chromozómu 17 v nádorových buňkách (fyziologický nález).
b) Normální počet chromozómu 17, vyšší počet kopií genu TOP2A (amplifikace).

Literatura

- Bouchalova K, Svoboda M, Kharraishvili G, Vrbkova J, Bouchal J, Trojanec R, Koudelakova V, Radova L, Cwierka K, Hajduch M, Kolar Z. BCL2 is an independent predictor of outcome in basal-like triple-negative breast cancers treated with adjuvant anthracycline-based chemotherapy. *Tumour Biol.* 2015 Jun;36(6):4243-52.
- Bouchalova K, Hajduch M, Bouchal J, Hlobilkova A, Houdova Megova M, Hudcova M, Koudelakova V, Medalova J, Srovnal J, Trojanec R. *Prediktivní a prognostická onkologie*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2016. 122 s. ISBN: 978-80-244-3188-8.
- Bouchalova K, Cizkova M, Cwierka K, Trojanec R, Hajduch M. Triple negative breast cancer--current status and prospective targeted treatment based on HER1 (EGFR), TOP2A and C-MYC gene assessment. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2009 Mar;153(1):13-7.
- Bouchalová K, Trojanec R, Kolár Z, Cwierka K, Cernáková I, Mihál V, Hajdúch M. Analysis of ERBB2 and TOP2A gene status using fluorescence in situ hybridization versus immunohistochemistry in localized breast cancer. *Neoplasma.* 2006;53(5):393-401.

