



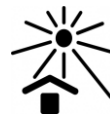
Návod k použití CEP17 (Green)/LSI Her-2/neu



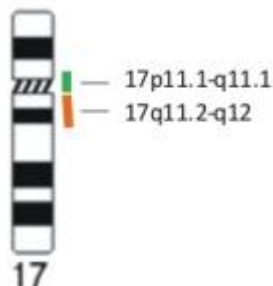
IntellMed, s.r.o.,
Václavské náměstí 820/41
110 00 Praha 1
IČ: 27780317
DIČ: CZ27780317



-18°C



Umístění sondy na chromozómu



Popis sondy

Her-2/neu FISH kit je určen k vyšetření amplifikace genu Her-2/neu pomocí fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) v lidské nádorové tkáni.

Her-2/neu FISH kit obsahuje dvě přímo značené fluorescenční sondy v hybridizačním pufru. Her-2/neu próba je značená fluorochromem Orange a pokrývá oblast genu Her-2/neu (17q11.2-q12). Centromerická (alfasatelitní) próba CEP17 je značená fluorochromem Green a hybridizuje k úseku 17p11.1-17q11.1.

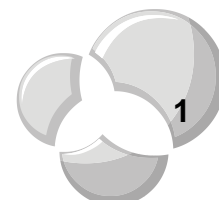
Her-2/neu

Her-2/neu onkogen (Human Epidermal Growth Factor receptor) byl identifikován v roce 1981 v linii krysího neuroblastomu a je identický s c-erbB-2 onkogenem. Gen je lokalizován v oblasti 17q11-12. Kóduje 185 kDa transmembránový glykoprotein s tyrozin-kinázovou aktivitou, který je téměř shodný s 170kDa receptorem epidermálního růstového faktoru (EGFR).

Amplifikace tohoto onkogenu zhoršuje celkovou prognózu postiženého pacienta, přičemž nejčastěji se jedná o pacientky s karcinomem prsu, kde je Her-2/neu amplifikován až ve 30%, dále o pacienty s nádorem plic, pankreatu, ovarií či žaludku.

Rakovina prsu patří mezi nejčastější nádorová onemocnění u žen. V roce 1987 Slamon at al. popsal vztah mezi amplifikací Her-2/neu onkogenu a nepříznivou prognózou u pacientek s karcinomem prsu. Rozsáhlejší studie později prokázaly, že tento vztah je významný pro uzlinově-pozitivní formu onemocnění, zatímco u uzlinově-negativní formy zůstává význam Her-2/neu nejasný. Buňky se zvýšenou expresí Her-2/neu bývají obvykle málo diferencované, nemají přítomny hormonální receptory a onemocnění obvykle zasahuje též uzliny. Pacienti mívají obvykle horší prognózu s ohledem na délku období bez nemoci (disease-free survival) i na celkovou dobu přežití (overall survival).

Pacienti s amplifikací genu Her-2/neu jsou léčeni monoklonální protiláčkou p185Her-2 (Trastuzumab, Herceptin). Při evaluaci počtu kopií Her-2/neu se určuje zároveň počet kopií chromozómu 17 a to pomocí centromerické sondy (17p11.1-q11.1). Použití centromerické sondy (CEP 17) umožňuje rozlišit případy pravé amplifikace (zmnožení genu) od amplifikace nepravé (každý z chromozómů 17 nese jednu kopii genu a v jádře existují více než 2 chromozómy 17) – viz obr.1b.

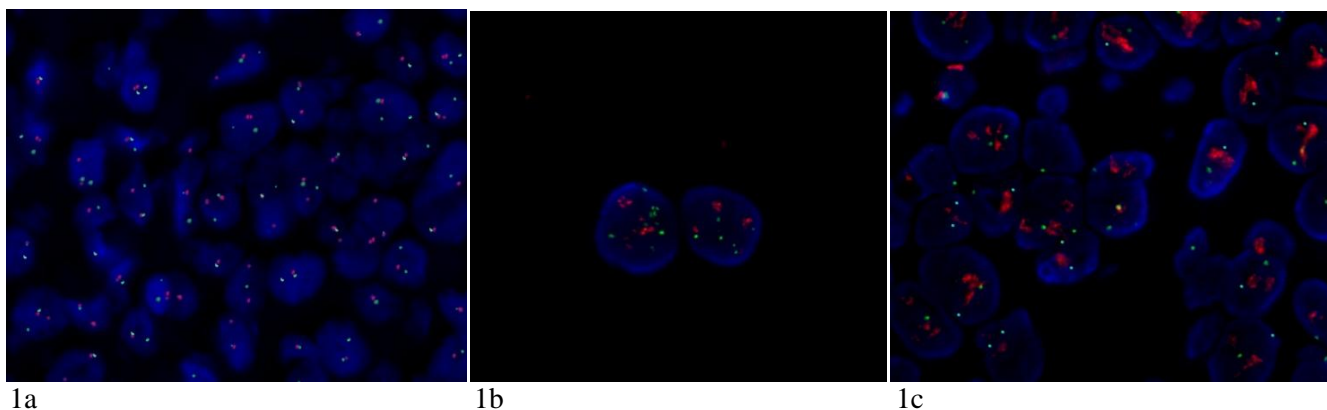




Výsledky FISH

Hodnotí se počet kopií Her-2/neu a CEP17 minimálně ve 100 jádrech nádorových buněk v histologicky verifikovaném řezu nádorové tkáně. Za pravou amplifikaci se považuje poměr Her-2/neu/CEP17 $>2,2$; u pacientů s poměrem mezi 1,8-2,2 je potřeba nález interpretovat jako hraniční a přihlídnout k výsledku imunohistochemického vyšetření. Za normální status je považován poměr $<1,8$.

Za normálních okolností pozorujeme v buňce dva oranžové signály (Her2/neu) a dva zelené signály (chromozóm 17) (Obr. 1a). Na obrázku 1b lze pozorovat polyploidii chromozómu 17 doprovázenou vyšším počtem kopií genu Her2/neu (nepravou amplifikaci). Pravou amplifikaci tedy vyšší počet kopií genu Her2/neu s normálním počtem chromozómu 17 lze sledovat na obr. 1c.



Obr. 1: Stanovení počtu kopií genu Her-2/neu a současného počtu kopií chromozómu 17 na parafinových řezech.

- LSI Her-2/neu
- CEP17

- Dvě kopie genu Her-2/neu i chromozómu 17 v nádorových buňkách (fyziologický nález).
- Polyploidie chromozómu 17 je doprovázena vyšším počtem kopií genu Her-2/neu (nepravá amplifikace).
- Normální počet chromozómu 17, vyšší počet kopií genu Her-2/neu (pravá amplifikace).

Literatura

- Slamon DJ, Clark GM, Wong SG: *Human breast cancer: Correrlation of relapse and survival with amplification of the Her-2/neu oncogene.* Science 1987; 235: 177-182.
- Perez EA: *Her2 as a prognostic, predictive, and therapeutic target in breast cancer,* JMCC 1999; 6: 233-240.
- Shak S: *Overview of trastuzumab (Herceptin) anti-Her2 monoclonal antibody clinical program in Her2-overexpressing metastatic breast cancer.* Semin Oncol 1999; 26: 71-7.
- Ross JS, Fletcher JA: *The Her-2/neu oncogene : prognostic factor , predictive factor and target for the therapy.* Semin Cancer Biol 1999; 9: 125-138.
- Lebeau A, Deimling D, Kaltz Ch., Sendelhofert, Iff A, Luthardt B, Untch M, Löhrs U: *Her-2/neu analysis in archival tissue samples of human breast cancer: comparsion of immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization.* J Clin Oncol 2001;19: 354-63.



R61

S24, S 25, S35, S36, S 37, S 39, S 45, S 53