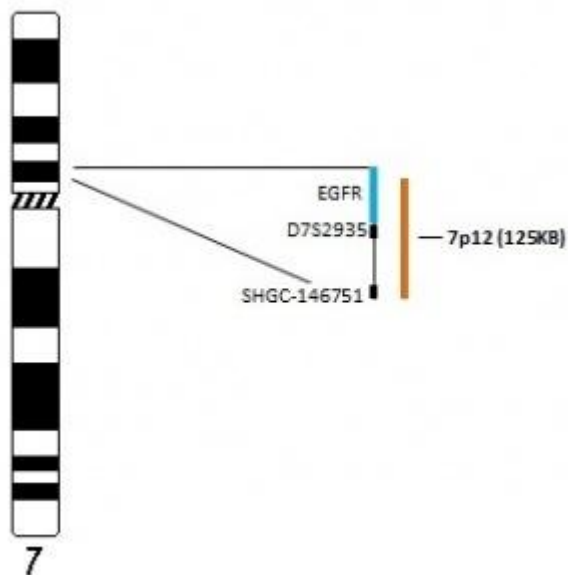




Návod k použití EGFR1

Umístění sondy na chromozómu



Popis sondy

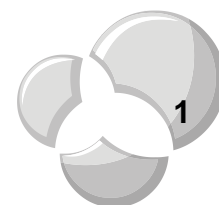
LSI EGFR FISH kit je určen ke stanovení statusu genu EGFR pomocí fluorescenční in situ hybridizace (FISH) v lidské nádorové tkáni.

EGFR FISH kit obsahuje přímo značenou fluorescenční sondu v hybridizačním pufru. EGFR próba je značená fluorochromem Orange.

Gen EGFR je lokalizován na chromozómu 7 v oblasti 7p12 a kóduje transmembránový receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR, HER1, erbB-1). Protein EGFR je jedním ze čtyř známých členů erbB rodiny tyrozinkinázových receptorů, do které řadíme také HER2, HER3 a HER4. Tyto receptory se skládají z extracelulární domény, obsahující dvě na cystein bohaté oblasti, která slouží pro vazbu ligandu, transmembránové lipofilní domény a intracelulární, cytoplazmatické domény, která vykazuje tyrozinkinázovou aktivitu. Přirozeným aktivačním ligandem je například epidermální růstový faktor (EGF), transformující růstový faktor alfa, „heparin-binding EGF-like“ růstový faktor.

EGFR hraje důležitou roli v regulaci buněčného cyklu, buněčné proliferace, diferenciace a buněčného přežívání epidermálních tkání. Receptor je aktivován vazbou ligandu, po které dochází k homodimerizaci dvou extracelulárních domén nebo k heterodimerizaci EGFR s jiným ze členů erbB rodiny. Tato dimerizace vede k autofosforylaci tyrozinových zbytků na C-konci intracelulární tyrozinkinázové domény. Tato fosforylace spouští intracelulární signální dráhy. Dvě z nejdůležitějších jsou Ras/Raf/MAPK dráha, jejíž aktivace zvyšuje proliferační aktivitu buňky a signální dráha PI3K/Akt. Expze EGFR je přísně regulována, zvýšení aktivity může vést k progresi buněčného cyklu, urychlení buněčné proliferace, nádorového růstu, diferenciace a angiogeneze, snížení citlivosti nádorových buněk k cytotoxické léčbě a radioterapii. Mechanismy zvyšující aktivitu EGFR jsou overexpze genu, zvýšená aktivace receptoru zvýšenou koncentrací ligandu, amplifikace EGFR1, aktivační mutace nebo ztráta intracelulárních regulačních mechanismů. Overexpze a amplifikace EGFR se vyskytuje u kolorektálních karcinomů, epidermálních nádorů hlavy a krku, karcinomů pankreatu, nemalobuněčných typů bronchogenního karcinomu, karcinomu ledviny, karcinomu prsu, karcinomu vaječníku, karcinomu močového měchýře, ale i u nádorů neepiteliálního původu, jako jsou např. gliomy. Pro praxi je významné, že expze EGFR s progresí nádorů spíše narůstá. Tyto nádory jsou charakterizovány zvýšenou agresivitou onemocnění, horším přežitím, rozvojem vzdálených metastáz či horším stupněm nádorové diferenciace.

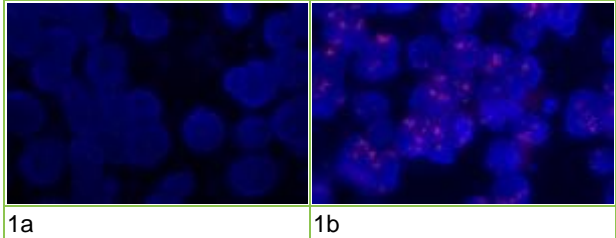
EGFR se určuje zároveň počet kopií chromozómu 7 a to pomocí centromerické sondy (CEP 7 (Green) / LSI EGFR (Orange)). Použití centromerické sondy (CEP7) umožňuje rozlišit případy pravé amplifikace (zmnožení genu) od amplifikace nepravé, kdy každý z chromozómů 7 nese jednu kopii genu a v jádře existují více než 2 chromozómy 7.





Výsledky FISH

Za normálních okolností pozorujeme v buňce dva oranžové signály (EGFR) (Obr. 1a). Na obrázku 1b lze pozorovat vyšší počet kopií genu EGFR (amplifikaci).



Obr. 1. Stanovení počtu kopií genu EGFR na parafínových řezech.
1a) Dvě kopie genu EGFR v nádorových buňkách (fyziologický nález).
1b) Vyšší počet kopií genu EGFR (amplifikace).

Literatura

- Koudelakova V, Hajduch M. Predictive Cancer Biomarkers: Current Practice and Future Challenges. In: Handbook of Biomarkers and Precision Medicine. 1.vyd. Boca Raton: CRC Press, 2019. Kapitola 7.5, s. 383-394. ISBN: 978-1-4987-6258-8.
- Houdova Megova M, Drábek J, Dwight Z, Trojanec R, Koudeláková V, Vrbková J, Kalita O, Mlcochova S, Rabcanova M, Hajduch M. Isocitrate Dehydrogenase Mutations are Better Prognostic Marker than O6-methylguanine-DNA Methyltransferase Promoter Methylation in Glioblastomas - a Retrospective, Single-centre Molecular Genetics Study of Gliomas. Klin Onkol. Fall 2017;30(5):361-371.
- 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.
- Kalita O, Trojanec R, Megova M, Hajduch M, Vaverka M, Hrabalek L, Zlevorova M, Drabek J, Tuckova L, Vrbkova J. Glioblastoma multiforme in patients with history of extracranial cancer: Case series. Clin Neurol Neurosurg. 2016 May;144:39-43.
- Bouchalova K, Svoboda M, Kharraishvili G, Vrbkova J, Bouchal J, Trojanec R, Koudelakova V, Radova L, Cwierotka 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.
- Koudelakova V, Kneblova M, Trojanec R, Drabek J, Hajduch M. Non-small cell lung cancer--genetic predictors. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2013 Jun;157(2):125-36.
- Cizkova M, Bouchalova K, Friedecky D, Polynkova A, Janostakova A, Radova L, Cwierotka K, Trojanec R, Zezulova M, Zlevorova M, Hajduch M, Melichar B. High lapatinib plasma levels in breast cancer patients: risk or benefit? Tumori. 2012 Jan-Feb;98(1):162-5.
- Bouchalova K, Cizkova M, Cwierotka K, Trojanec R, Friedecky D, Hajduch M. Lapatinib in breast cancer - the predictive significance of HER1 (EGFR), HER2, PTEN and PIK3CA genes and lapatinib plasma level assessment. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2010 Dec;154(4):281-8
- Bouchalova K, Cizkova M, Cwierotka 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.
- Uberall I, Kolár Z, Trojanec R, Berkovcová J, Hajduch M. The status and role of ErbB receptors in human cancer. Exp Mol Pathol. 2008 Apr;84(2):79-89.